

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1911-1912. — N° 48

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE
ET COMPARÉE DE LA FACULTÉ DE LYON

*Contribution à l'Etude des Cultures homogènes
des Bacilles de la Tuberculose*

Agglutinabilité et Pouvoir Agglutinogène des Bacilles de la Tuberculose

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 14 Décembre 1911

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

JULES AMSLER,

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

né à Périgueux, le 8 Janvier 1887



IMPRIMERIE DUCROS & LOMBARD

41, Rue du Tunnel, VALENCE

1911

Agglutinabilité et Pouvoir agglutinogène

des Bacilles de la Tuberculose

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année scolaire 1911-1912. — N° 48

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE MÉDECINE EXPÉRIMENTALE
ET COMPARÉE DE LA FACULTÉ DE LYON

*Contribution à l'Etude des Cultures homogènes
des Bacilles de la Tuberculose*

Agglutinabilité et Pouvoir Agglutinogène des Bacilles de la Tuberculose

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

et soutenue publiquement le 14 Décembre 1911

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

JULES AMSLER

Elève de l'Ecole du Service de Santé Militaire

né à Périgueux, le 8 Janvier 1887



IMPRIMERIE DUCROS & LOMBARD

41, Rue du Tunnel, VALENCE

—
1911

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. HUGOUNENQ. DOYEN
J. COURMONT ASSESSEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. CHAUVEAU, AUGAGNEUR, MONOYER, SOULIER, TRIPIER, CAZENEUVE,
LÉPINE, PIERRET.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	}	MM. TEISSIER.
Cliniques chirurgicales		ROQUE.
Clinique obstétricale et Accouchements.		BARD.
Clinique ophtalmologique.		PONCET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques		JABOULAY.
Clinique des maladies mentales		FABRE.
Clinique des maladies des enfants.		ROLLET.
Clinique des maladies des femmes		NICOLAS.
Physique médicale		X.
Chimie médicale et pharmaceutique		WEILL.
Chimie organique et toxicologie		POLLOSSON (A).
Matière médicale et Botanique.		CLUZET.
Parasitologie et Histoire naturelle médicale		HUGOUNENQ.
Anatomie		MOREL.
Anatomie générale et Histologie		BEAUVISAGE.
Physiologie		GUIART.
Pathologie interne		TESTUT.
Pathologie et Thérapeutique générales		RENAUT.
Anatomie pathologique		MORAT.
Médecine opératoire		COLLET.
Médecine expérimentale et comparée		COURMONT (P.)
Médecine légale		PAVIOT.
Hygiène.		POLLOSSON (M.).
Thérapeutique		X.
Pharmacologie		LACASSAGNE.
		COURMONT (J.).
		PIC.
		FLORENCE.

PROFESSEURS ADJOINTS

Physiologie, cours complén-entaire	MM. DOYON.
Maladies des oreilles, nez et larynx	LANNOIS.
Pathologie externe.	VALLAS.
Maladies des voies urinaires	ROCHET,

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Chimie minérale.	MM. BARRAL	agrégés
Propédeutique chirurgicale	BÉRARD.	—
Propédeutique de gynécologie.	CONDAMIN.	—
Chirurgie infantile.	NOVÉ-JOSSERAND,	—
Accouchements.	COMMANDEUR,	—
Matière médicale	MOREAU,	—
Embryologie	REGAUD,	—
Anatomie topographique.	PATEL,	—
Botanique	BRETIN,	—
Chirurgie expérimentale	VILLARD	—
Clinique infantile	MOURIQUAND	—

AGRÉGÉS

MM. SAMBUC REGAUD COMMANDEUR GAYET NEVEU-LEMAIRE PATEL	MM. J. LÉPINE LESIEUR Etienne MARTIN LAROYENNE VORON NOGIER	MM. LATARGET BRETIN LERICHE THÉVENOT TAVERNIER. CADE.	MM. MOURIQUAND. ARLOING (F.). GUILLEMARD
--	---	---	---

M. BAYLE, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. P. COURMONT, *président*; NICOLAS, *assesseur*; NEVEU-LEMAIRE et CADE, *agrégés*.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

Je suis heureux de pouvoir leur témoigner toute ma reconnaissance pour leur vie de sacrifices et de dévouement. Je leur dédie ce modeste travail, faible témoignage de ma profonde affection.

A MON FRÈRE

A MA SŒUR, A MON BEAU-FRÈRE

Témoignage de reconnaissance pour la bonté et la tendresse qu'ils ont toujours eues pour leur cadet. Je les unis dans un même sentiment d'affection.

A MES PARENTS. — A MES AMIS

A LA MÉMOIRE

DU PROFESSEUR S. ARLOING

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR PAUL COURMONT

Professeur de Pathologie générale à la Faculté de Médecine

Médecin des Hôpitaux

J'emporterai de mon passage à son laboratoire un profond souvenir ; il m'a toujours accueilli avec la plus grande bienveillance, et après avoir voulu me confier ce travail, pour la rédaction duquel il ne m'a ménagé ni ses conseils ni ses encouragements, il me fait aujourd'hui l'honneur de présider le jury de cette thèse. Qu'il veuille bien agréer mes sincères remerciements et l'assurance de ma profonde gratitude.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-MAJOR LAFFORGUE

Professeur agrégé à l'Ecole d'application du Val-de-Grâce

A MES MAÎTRES

DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE DE TOURS

DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE LYON

DE L'ÉCOLE DU SERVICE DE SANTÉ MILITAIRE

AVANT-PROPOS

Objet général de cette étude.

C'est en 1898, que le regretté professeur Arloing fit sa première communication sur les cultures homogènes de la tuberculose ; depuis cette époque, les travaux publiés tant sur les cultures elles-mêmes que sur l'étude du séro-diagnostic de la tuberculose sont excessivement nombreux, et à l'heure actuelle la question est connue aussi complètement, que peut l'être une question d'ordre biologique.

Aussi notre modeste travail portera sur un point bien spécial : depuis que le professeur Arloing fit pousser pour la première fois d'une façon homogène le bacille de Koch, ces cultures sont entretenues régulièrement par M. Paul Courmont par des ensemencements répétés environ tous les mois, au laboratoire de médecine expérimentale de la Faculté de Lyon ; et depuis plus de treize ans les conditions où poussent ces cultures n'ont pas changé : la température de l'étuve reste constante, la composition du bouillon reste aussi

invariable que le permettent les peptones employées, l'agitation en est faite deux fois par jour. Or en 1904, MM. Arloing et Paul Courmont, par deux articles parus dans la Revue de la Tuberculose, et par des expériences publiées complètement dans la thèse de Cl. Berthelon, fixèrent, définitivement pour le moment, où se faisaient leurs études, les grandes propriétés de ces cultures homogènes, et étudièrent complètement leur agglutinabilité, les variations de l'agglutination avec des sérums de sources multiples, et enfin leur pouvoir agglutinogène.

Mais nous sommes en 1911, et il a paru intéressant à M. le professeur Paul Courmont de rechercher si, en sept ans, les propriétés de ces cultures homogènes n'avaient pas varié, et dans l'affirmative, en quel sens s'étaient faites les variations. M. le Professeur P. Courmont a bien voulu nous confier la tâche de rechercher ces modifications.

Le Professeur Arloing avait daigné s'intéresser à nos travaux, et nous donner quelques conseils ; une fin prématurée est venue l'arracher à l'affection respectueuse de tous ceux qui l'entouraient ; mais nous garderons un souvenir ému de sa grande bonté, et de l'accueil bienveillant qu'il nous fit pendant plus d'une année dans son laboratoire.

Pour mener à bien notre tâche, M. le Professeur Paul Courmont ne nous a épargné ni son temps, ni ses conseils ; aussi nous le prions d'agréer ici l'assurance de notre entière reconnaissance, et nos remer-

ciements pour l'honneur qu'il nous fait aujourd'hui en acceptant la présidence de notre jury de thèse.

A l'Ecole du Service de Santé Militaire, toute notre gratitude va à M. le Médecin-Major Lafforgue, professeur agrégé au Val-de-Grâce ; c'est pendant les stages faits dans son service de l'hôpital Desgenettes, que nous avons appris le meilleur de nos connaissances cliniques ; sa bienveillance et sa sollicitude à notre égard se sont manifestées dans bien des circonstances ; qu'il soit assuré de notre reconnaissance et de notre dévouement.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

Historique.

Dans une note à l'Académie des Sciences, en mai 1898 (1), le professeur Arloing annonçait qu'il était parvenu à faire pousser d'une façon homogène le bacille de Koch, grâce à un procédé qu'il indiquait longuement :

« ... les cultures homogènes liquides sont obtenues en partant des cultures sur pommes de terre, par immersion légère de la surfaceensemencée des pommes de terre dans le bouillon ; puis par un simple mouvement de rotation des tubes de manière à accoutumer ces colonies au contact du liquide, les bacilles

(1) S. Arloing : Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du bac. de la tuberculose humaine en milieu liquide. C. R. de l'Acad. des Sciences, 9 Mai 1898 (p. 1139).

les plus superficiels et les plus faciles à séparer de leurs voisins tombent dans le liquide, et au bout de quelques semaines, l'eau glycinée était transformée en une véritable émulsion de bacilles ; cette émulsion est conservée en bouillon glyciné par le système de l'agitation répétée une ou plusieurs fois par jour... »

De plus, en mélangeant à ces cultures homogènes du sérum d'animaux naturellement ou expérimentalement tuberculeux, le professeur Arloing constata que ces cultures présentaient le phénomène de l'agglutination (1). Cette agglutination fut aussi constatée avec du sérum humain tuberculeux. C'était le séro-diagnostic de la tuberculose (2), que le professeur Arloing appliqua à la Clinique avec M. le Professeur P. Courmont.

Ces premiers essais d'agglutination furent faits avec une culture homogène provenant d'un bacille humain, cultivé depuis quelques années au laboratoire, et désigné sous le nom de bacille A (Arloing) : de même, la culture fut la culture A.

Peu à peu MM. Arloing et P. Courmont réussirent à rendre homogène un certain nombre de cultures de souches différentes : humaines, bovines, aviaires.

Nous reviendrons en détail sur ces diverses cultures, lorsque nous exposerons nos expériences, et nous étudierons complètement leur origine, leurs caractères

(1) S. Arloing : Agglutin. du bac. de la tub. vraie. C. R. Acad. des Sciences, 16 mai 1898 (p. 1398).

(2) S. Arloing : Agglutin. du b. de Koch par le sérum sanguin des tuberculeux. Congrès de Méd. interne, Montpellier 1898.

physiques et leurs propriétés. Mais pour la compréhension de ce qui va suivre, il nous faut dès maintenant énumérer ces cultures.

Les expériences de MM. Arloing et P. Courmont, publiées en 1904 portèrent sur 6 cultures dont nous indiquons, d'un seul mot, l'origine et le mode de désignation :

1° 3 cultures de tuberculose humaine, ainsi désignées :

- Culture Arloing : culture A.
- Heymans : culture H.
- Russe : culture R.

2° 1 culture de tuberculose bovine : culture bovine Krah1 : cult. bov. K.

3° 2 cultures de tuberculose aviaire :

- Culture aviaire du laboratoire : cult. av. L.
- — Hueppe : cult. av. H.

Ces cultures homogènes, dont la collection se forma peu à peu, étaient et sont toujours entretenues de génération en génération, au laboratoire de Médecine expérimentale, par des ensemencements mensuels dans un bouillon dont la formule, est la suivante :

Peptone	20 gr.
Chlorure de Sodium	10 gr.
Glycérine pure	40 gr.
Eau Q. S.	pour 1000 cc.

Ces cultures sont agitées soit à la main, deux fois par jour, soit continuellement au moyen d'appareils

spéciaux. (Voir M. P. Courmont : Agitateur électrique pour l'obtention des Cultures homogènes. Journal de Phys. et de Path. génér., mai 1903).

Disons de suite que c'est avec la culture A que sont faits tous les séro-diagnostic envoyés journellement au laboratoire, et que c'est cette culture, la plus dense et la plus homogène, qui est répandue aujourd'hui dans le monde entier. C'est de beaucoup la mieux connue et la plus intéressante des cultures homogènes.

I. — Technique.

Nous arrivons maintenant à la technique employée pour rechercher le phénomène de l'agglutination (1), et nous l'exposerons une fois pour toutes, car les détails en ont été fixés dès 1900, par MM. Arloing et P. Courmont, et n'ont guère varié depuis.

On opère ainsi qu'il suit, pour chaque culture : on prend dans la partie supérieure du matras (pour éviter de ramasser des grumeaux, au cas où il s'en trouverait dans la culture), une certaine quantité, soit 1 cc. du liquide homogène, au moyen d'une pipette graduée et stérilisée. On verse ce centimètre cube dans une grande éprouvette graduée, de 100 c. c. environ.

Or les résultats de l'agglutination doivent se constater macroscopiquement, et la culture brute serait

(1) S. Arloing et P. Courmont : Quelques indications pratiques pour le séro-diagnostic de la tuberculose. Province Med. 17 mai 1902.

beaucoup trop dense pour obtenir le résultat cherché : d'où la nécessité d'une dilution avec du sérum physiologique, soit une solution de chlorure de sodium à 8 pour mille. La quantité de sérum artificiel à ajouter varie bien entendu avec l'âge, la densité de la culture employée ; or, l'expérience a montré que pour la culture A, âgée de six semaines environ, il faut la diluer avec environ 70 fois son volume d'eau salée, pour obtenir une solution propice à l'agglutination. Il est bien évident que ce taux de 1 c. c. de culture pour 70 c. c. de sérum n'a rien de fixe, et une habitude, facile du reste à acquérir, peut seule guider l'opérateur : il faut obtenir une solution opaline, presque transparente, qui donne par agitation de belles ondes soyeuses. C'est ce liquide qui constitue le milieu de choix pour la recherche de l'agglutination. Il ne faut diluer ni trop, ni trop peu, car on a, dans le premier cas, un liquide qui se laisse trop facilement agglutiner, et dans le second un milieu trop dur, qui faussera les résultats obtenus. Dans la pratique, on se sert d'un sérum étalon dont le pouvoir agglutinant est connu par des expériences antérieures, et qui sert ainsi de moyen de contrôle. Voilà pour une culture.

On opère de la même façon pour les autres cultures, en ayant soin de changer de pipette, et d'en prendre une nouvelle, stérilisée, chaque fois qu'on puise une nouvelle culture dans le matras qui la contient, pour éviter toute chance de souiller cette nouvelle culture, avec la culture précédente. Pour la dilution on se sert de la culture A comme de point de repère ; nous indiquerons en son lieu le taux de dilution de chaque culture,

et nous verrons quelles grandes différences il peut exister entre ces diverses dilutions nécessaires pour chaque échantillon étudié.

Il est bien entendu que toutes ces diverses manipulations doivent se faire avec les précautions de rigoureuse asepsie en usage dans un laboratoire de microbiologie ; de plus ces dilutions qui vont nous servir pour les agglutinations sont préparées extemporanément et doivent être employées immédiatement pour éviter une contamination toujours possible malgré toutes les précautions prises, et contamination qui pourrait dénaturer les résultats obtenus, si les germes avaient le temps de pousser. De plus ce mélange même conservé pur paraît perdre assez rapidement ses propriétés agglutinables. Nous verrons en étudiant les sérums agglutinants, que leur récolte est aussi l'objet de précautions méticuleuses.

Une fois que la dilution de culture est obtenue, il faut la répartir dans des tubes spéciaux. Ce sont de petits tubes en verre, de 8 à 10 centimètres de hauteur sur 1 centimètre environ de diamètre ; ces tubes sont rangés sur des porte-tubes. On prend alors une pipette ordinaire, d'une contenance de 10 c. c. environ, et munie d'un étranglement à sa partie supérieure ; cet étranglement délimite le réservoir qui sera rempli par le liquide aspiré. Cette pipette doit être maniée avec précaution, surtout dans les opérations de flambage ; car une fois qu'on a commencé à s'en servir, c'est avec la même pipette que doivent être faites toutes les opérations portant simultanément sur une même culture et sur un même sérum ; car pour qu'on ait toujours le

même rapport entre un nombre x de gouttes de cultures et nombre x' de gouttes de sérum, il faut que ces quantités x et x' représentent des gouttes d'un volume rigoureusement égal.

Donc, on range sur un même porte-tube tous les tubes servant à l'étude d'un même sérum, et dans chacun on met un certain nombre de gouttes, nombre variable avec le taux d'agglutination du sérum étudié. Pour fixer les idées prenons un exemple, et disons que dans le 1^{er} tube nous mettons 10 gouttes de culture, dans le 2^e 20 gouttes, dans le 3^e 30, dans le 4^e 50 ; puis on lave à plusieurs reprises la pipette en aspirant et en chassant de l'eau stérilisée, on la flambe, et lorsqu'elle est refroidie on puise le sérum soigneusement decanté, et dont on verse une goutte dans chaque tube : on a ainsi dans le 1^{er} un mélange à 1/10, à 1/20 dans le second, à 1/50 dans le quatrième.

Si on veut pousser l'agglutination à un taux supérieur à 50, au 100^e ou au 200^e par exemple, il est matériellement impossible de compter ainsi des centaines de gouttes, ce qui serait pénible et fastidieux. Aussi pour avoir un essai à 1 pour 200, on compte 20 gouttes de culture d'une part, d'autre part on compte dans un tube 9 gouttes de solution de chlorure de sodium à 8 pour 1000, et dans ces 9 gouttes on verse 1 goutte de sérum : on mélange soigneusement et on a ainsi une dilution au dixième de notre sérum, dilution dont nous ajouterons 1 goutte aux 20 gouttes de culture, pour avoir notre mélange à 1 p. 200. C'est cette méthode de dilution au dixième qui nous a servi pour toutes les agglutinations supérieures au 50^e.

Une fois sérum et culture en présence, il ne faut jamais oublier d'agiter soigneusement le tube, car le sérum, en raison de sa densité, se collecte en totalité dans les régions inférieures, et ses agglutinines n'agiraient pas sur la masse des bacilles, si une agitation ne mélangeait pas complètement les deux liquides.

Lorsqu'on fait le séro-diagnostic pour une observation clinique, on se contente ordinairement, et sauf indications contraires, de faire quatre dilutions avec 5, 10, 15 et 20 gouttes de culture. Pour nos expériences, nous avons toujours cherché le taux d'agglutination limité, c'est-à-dire qu'un sérum n'agglutine pas la culture considérée à un taux supérieur à celui que nous indiquons.

II. — Résultats : leur appréciation, leur notation.

Comment apprécierons-nous les résultats obtenus ? Tout d'abord, il faut attendre cinq à six heures et, par conséquent, faire les opérations de préférence dans la matinée pour avoir les résultats l'après-midi. En hiver, de plus, il est bon de mettre à l'étuve pendant une heure pour pousser un peu l'agglutination et avoir des résultats plus précis et plus sensibles.

L'agglutination doit se constater macroscopiquement ; pour cela, interposer les tubes entre l'œil et une source lumineuse assez intense, un bec Auer, de préférence. Si l'agglutination est excessivement positive, on voit dans le fond du tube un culot formé par la totalité des

corps bacillaires, alors que le liquide surnageant est limpide. Si l'agglutination est nettement positive, on peut voir les bacilles amassés en grumeaux floconneux, en suspension dans le liquide ; à la limite du taux d'agglutination, ces grumeaux sont très fins et ne sont guère visibles qu'en imprimant au tube un mouvement de rotation. Enfin, si le résultat est négatif, la dilution a gardé son caractère de trouble opalin, et rien ne la différencie du tube témoin, qui n'a reçu qu'une dilution de culture sans sérum.

Bien entendu, entre ces résultats types, il existe toute une série d'intermédiaires, qui font que dans des agglutinations peu intenses, les résultats peuvent être tenus pour douteux.

Pour exprimer ces résultats, on se sert des signes conventionnels suivants : prenons notre exemple ci-dessus, et soient nos quatre tubes avec 10, 20, 30 et 50 gouttes. Dans le premier tube, il y a eu un culot dense formé par les bacilles agglutinés en totalité ; on dira que l'agglutination est très positive, résultat qu'on exprimera ainsi : $+ 10$ ou même ± 10 pour marquer l'intensité de la réaction ; — de même dans le second tube, les bacilles sont amassés en grumeaux flottant dans le tube ; on dira encore : agglutination positive au 20° ou $+ 20$. Dans la dilution à 1 pour 30, il n'en va plus de même : le liquide est encore opalin, et si on voit quelques petits flocons, qu'on peut rendre plus apparents en imprimant au tube un mouvement de rotation rapide, les résultats cependant sont peu nets, ce qu'on exprimera en disant : *agglutination douteuse*, à 30, soit ± 30 ; enfin, dans le dernier tube, le liquide est

franchement trouble, et ne diffère en rien du tube témoin : donc agglutination négative à 50, ou — 50.

En résumé, le résultat de l'essai d'agglutination du sérum se notera :

$$\text{Serum X.} = + 20 \pm 30$$

ce qui veut dire que le sérum en question agglutine franchement vingt fois sa quantité de culture, que le résultat est douteux avec un mélange à 1 pour 30, et à fortiori négatif au-dessus.

Cette notation est celle qui a été indiquée par MM. Arloing et Paul Courmont, et qui est toujours employée lorsqu'on exprime le résultat d'un sero-diagnostic tuberculeux.

Ainsi que nous l'avons déjà dit, le phénomène de l'agglutination a toujours été constaté à l'œil nu. Cependant, dans quelques cas, rares il est vrai, nous avons eu recours au microscope, lorsque les résultats paraissaient douteux, et de plus ces résultats douteux ont toujours été examinés comparativement aux cultures employées. — Du reste nous avons toujours vérifié au microscope l'état de pureté des cultures que nous employions, et le résultat de ces examens sera donné lorsque nous étudierons en détail chacune des cultures homogènes.

CHAPITRE II

Résultats des expériences faites en 1904 par MM. Arloing et Paul Courmont

Nous allons maintenant exposer en détail les expériences faites, et les résultats obtenus en 1904 par MM. Arloing et Paul Courmont. Ces recherches furent publiées en détail dans la thèse de Berthelon (1); — le schéma des expériences et les conclusions parurent dans la *Revue de la Tuberculose* (2).

I. — *Plan d'expériences ; cultures employées.*

Le chien fut l'unique animal auquel on s'adressa ; — les inoculations furent faites diversement, soit sous la peau, soit dans la cavité pleurale, etc... Quant aux

(1) Cl. Berthelon : thèse de Lyon 1904.

(2) *Revue de la Tuberculose* : 1^{er} mémoire, juin 1904.

2^e mémoire, octobre 1904.

cultures, ce furent celles que nous avons mentionnées plus haut, à savoir :

a) 3 cultures de bacilles humains, type A, type H, type R.

b) 1 culture de bacilles bovins, type Bov. K.

c) 2 cultures de bacilles aviaires, type Aviaire Lab. et type Aviaire Hueppe.

II. — *Résultats généraux.*

Nous ferons tout d'abord une remarque ; nous ne tiendrons compte que des résultats définitifs obtenus en 1904 ; — car la culture H rendue homogène en 1901, fut d'abord très agglutinable, puis cette agglutinabilité disparut en 1903 et disparut complètement ; nous verrons ce qu'elle nous donnera en 1911.

Les expériences portent sur trois points principaux :

A) *L'agglutinabilité* des cultures homogènes, c'est-à-dire la propriété qu'ont les bacilles des cultures homogènes de se mettre en grumeaux, de se réunir en petits amas sous l'influence de corps contenus dans un sérum donné ; — cette agglutinabilité peut être étudiée :

a) Avec des *serums homologues* : par exemple, l'agglutination de la culture A par le sérum d'un animal inoculé par le sérum de la culture A ; de la culture Bov. K avec le sérum d'un animal inoculé avec cette culture Bov K.

b) Avec des *serums hétérologues*, c'est-à-dire des sérums provenant de sujets quelconques, naturellement ou expérimentalement tuberculeux.

B) Et le *pouvoir agglutinogène* des cultures homogènes, c'est-à-dire le pouvoir que peuvent avoir ces cultures de développer, dans les humeurs des animaux auxquels on les injecte, des substances qui sont capables d'agglutiner ces cultures, lorsqu'on mettra réciproquement en contact sérum et culture.

Pour ces diverses études, MM. Arloing et Paul Courmont firent des inoculations multiples ; nous n'en retiendrons que la dernière série qui fut faite en novembre 1903.

On prend six chiens, de taille et de poids autant que possible comparables, et on leur inocule sous la peau 10 c.c. d'émulsion homogène très riche. Les chiens présentent peu après de volumineux abcès renfermant des bacilles, et on les saigne aseptiquement trente-cinq jours après l'inoculation. — Pas de lésions tuberculeuses à l'autopsie.

Suivant la technique que nous avons déjà exposée, des sérums ainsi obtenus, on recherche le pouvoir agglutinant vis-à-vis de toutes les cultures et on obtient ainsi :

- Le pouvoir agglutinant de chaque sérum.
- L'agglutinabilité de chaque culture homogène.
- Enfin le pouvoir agglutinogène de la culture qui a été injectée à l'animal dont on étudie le sérum.

Ces trois propriétés sont résumées et condensées dans le tableau ci-dessous (1), dans lequel la colonne

(1) Thèse de Berthelon, page 94, et S. Arloing et P. Courmont, *Revue de la Tuberculose*, année 1904, page 335.

verticale contient les sérums indiqués par le nom de la culture qui leur a donné naissance, — la colonne horizontale indique les cultures agglutinées ; au-dessous sont les chiffres limites qui indiquent le taux d'agglutination :

TABLEAU I

Agglutination des cultures humaines A, H, R, bovine K et aviaires L et H (août 1903), (MM. Arloing et P. Courmont).

SÉRUMS (Chiens inoculés)	CULTURES AGGLUTINÉES					
	Humaines			Bovine	Aviaires	
	A	H	R	K	Lab.	Huep.
A (cult. hum. solide) ..	+ 100	+ 100	0	+ 100	0	0
H (— liquide) ..	+ 200	+ 200	0	+ 100	0	0
R (—)	+ 800	+ 800	0	+ 800	0	0
Bovine K	+ 800	0	0	+ 800	0	0
Aviaire Lab	+ 200	+ 200	0	+ 200	0	0
— Huep	+ 80	+ 100	0	+ 50	0	0

TABLEAU I^{bis}

Agglutination des cultures humaines A, H, R, bovine K et aviaires Lab. et Huep., par les sérums obtenus par l'inoculation de ces cultures (décembre 1903).

SÉRUMS (Chiens inoculés)	CULTURES AGGLUTINÉES					
	Humaines			Bovine	Aviaires	
	A	H	R	K	Lab.	Huep.
A (cult. humaine)	+ 1200	0	0	+ 1200	0	0
H —	+ 150	0	0	+ 80	0	0
R —	+ 300	0	0	+ 300	0	0
Bovine K	+ 300	0	0	+ 400	0	0
Aviaire Lab	+ 200	0	0	+ 200	0	0
— Huep	+ 80	0	0	+ 50	0	0

Voici maintenant les conclusions détaillées que MM. Arloing et Paul Courmont tirent de ce tableau qui contient les résultats définitifs de nombreuses expériences :

III. — *Agglutinabilité.*

1° Il y a des cultures homogènes agglutinables, et d'autres complètement dépourvues d'agglutinabilité ; les premières (cultures humaine A et bovine K), ont été agglutinées par tous les échantillons de sérums provenant de l'inoculation de bacilles agglutinables ou non ; les secondes (humaines H et R, et aviaires) n'ont été agglutinées par aucun sérum, pas même par le sérum homologue, pourtant très agglutinant ;

2° L'agglutinabilité est une propriété contingente et variable ; elle n'appartient pas à tous les échantillons de culture homogène, et même elle peut apparaître et disparaître ensuite dans la série des générations successives d'un bacille : c'est le cas de la culture humaine H, qui, agglutinable au début, perdit rapidement et complètement cette propriété ;

3° L'origine des cultures ne semble pas avoir d'influence sur l'agglutinabilité, puisque sur trois cultures humaines, l'une A, est constamment agglutinable, l'autre R, ne l'est pas du tout, et la troisième H, ne l'a été que temporairement ; la culture bovine est très agglutinable, enfin les deux aviaires ne l'ont jamais été ;

4° Le sérum homologue n'est pas toujours le plus agglutinant pour le bacille correspondant, puisqu'on

peut voir que la culture Bov. K est agglutinée à + 400 par le sérum homologue, et à + 1200 par le sérum A.

5° Enfin, si on recherche les conditions qui entraînent l'agglutinabilité d'une culture homogène, on peut déterminer, sinon les causes de cette propriété, du moins vérifier quelles sont les conditions qui la régissent et celles qui lui sont indifférentes :

L'origine des cultures n'a aucune importance ;

La virulence n'est pas en cause : la culture A a vu sa virulence passer par des phases très variables, alors que son agglutinabilité n'a pas varié ; la culture Bov. K est très virulente et s'agglutine beaucoup mieux que les aviaires privées de virulence ;

Le pouvoir agglutinogène, comme nous allons le voir, n'a aucun rapport avec l'agglutinabilité ;

Les modifications physiques des cultures restent en définitive les seuls caractères différentiels entre les cultures agglutinables et celles qui ne le sont pas ; les cultures A et Bov. K sont les plus exubérantes, celles qui poussent le plus vite, en donnant un trouble marqué et persistant, leur homogénéité est parfaite, se maintient pendant plusieurs jours sans qu'il soit nécessaire d'agiter les ballons ; au contraire, les cultures R, H, et aviaires, n'ont jamais poussé aussi abondamment et aussi franchement ; de plus, elles donnent un dépôt assez marqué après vingt-quatre heures de repos et si on néglige d'agiter le matras pendant deux ou trois jours, le liquide devient clair et ne renferme presque plus de bacilles en suspension. De plus, d'examen microscopiques répétés, il résulte que l'isolement des bacilles les uns des autres, est plus parfait

dans les cultures bien agglutinables ; la mobilité, la grosseur et la longueur des bacilles paraissent sans grande importance. — En résumé, il semble que le caractère extérieur essentiel à l'agglutinabilité d'une culture de bacille de la tuberculose, soit sa parfaite homogénéité, l'isolement et l'indépendance des bacilles les uns des autres ; or, toute cause dysgénésique nuira à l'apparition de ce caractère ; donc le parfait développement des cultures à l'état homogène, est une condition essentielle pour obtenir des matériaux propres à l'étude de l'agglutination ou à la pratique du séro-diagnostic. Pour cela, il faudra se servir d'un bacille bien agglutinable, quelle que soit son origine, et cultivé dans les conditions que nous avons indiquées (le type humain A par exemple). Etant donné un tel bacille, il pourra être agglutiné par les sérums tuberculeux de n'importe quelle origine, et servir au diagnostic de la tuberculose.

IV. — *Pouvoir agglutinogène.*

Toutes les cultures employées ont été agglutinogènes à un certain degré, c'est-à-dire que leur inoculation aux animaux a fourni un sérum agglutinant pour certaines cultures (A et Bov. K), alors même que le bacille inoculé n'était pas agglutinogène. Or, la constance du pouvoir agglutinogène de toutes les cultures homogènes qui ont été employées est un fait important : il permet tout d'abord de rapprocher les divers types de tuberculose qu'on a voulu isoler ; nos deux

types humain A et bovin K, ont montré des propriétés exactement parallèles à ce point de vue ; il semble ensuite que cette propriété peut à l'occasion servir à éloigner certains bacilles du groupe des bacilles de la tuberculose, car on a montré par ailleurs que les divers bacilles acido-résistants se différencient des bacilles de la tuberculose, en ce qu'ils n'ont pas le pouvoir de déterminer chez les sujets infectés par eux un pouvoir agglutinant vis-à-vis de ceux-ci (1).

Quant au rapport entre le pouvoir agglutinogène et l'agglutinabilité d'une culture, il est impossible d'en établir de constant.

Travail actuel

Voilà donc quels étaient les résultats obtenus par MM. Arloing et Paul Courmont en 1903. Quelle va être maintenant notre tâche ?

Par des expériences en tous points superposables à celles de 1903, nous allons reprendre tout le travail fait huit ans auparavant. Nous rechercherons l'agglutinabilité de ces cultures homogènes qui sont toujours régulièrement entretenues au laboratoire de médecine expérimentale ; nous rechercherons si leur agglutinabilité a varié, si leur pouvoir agglutinogène s'est main-

(1) P. Courmont et Descos : De l'agglutination des cult. homog., par les bacilles acidophiles. — (Journ. de phys. et path. générales n° 6. Nov. 1902).

tenu ; enfin, à l'étude de ces six cultures s'ajoutera celle d'une culture nouvellement venue, quatrième échantillon de bacilles humains, cultivés d'une façon homogène depuis six ans au laboratoire, c'est la culture Koch-Baldwin, ou culture K B.

Donc, dans un premier chapitre, nous allons étudier en détail les cultures homogènes, puis nous exposerons les recherches faites pour étudier le pouvoir agglutinant de ces cultures ; enfin, dans les deux derniers chapitres, nous ferons une étude comparée de l'agglutinabilité et du pouvoir agglutinogène des cultures homogènes des bacilles de la tuberculose.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE 1^{er}

Des cultures homogènes de la Tuberculose

Cultures homogènes utilisées

Nos recherches ont porté sur tous les échantillons de cultures homogènes existant au laboratoire : ce sont les six cultures déjà connues en 1903, plus une septième importée d'Amérique par M. le Professeur P. Courmont.

Voici quel sera pour chaque culture notre plan d'étude :

Après un court *historique* dans lequel nous indiquons les origines de la culture, nous examinerons successivement d'abord les *caractères physiques et biologiques*, à savoir : l'homogénéité, la rapidité avec

laquelle elle dépose, l'odeur, la virulence, la vitalité ; — puis nous donnerons les résultats de *l'examen direct*, et de l'examen *après coloration*. — Enfin l'*agglutinabilité* et le *pouvoir agglutinogène* feront l'objet de deux grands chapitres distincts.

Faisons tout d'abord une remarque qui s'applique à toutes les cultures homogènes, au sujet de leur examen après coloration : pour examiner les éléments microbiens après coloration, il faut faire subir à la culture quelques manipulations qui permettent l'étalement du liquide sur lame de verre ; ces manipulations sont dues au fait suivant : la présence d'une forte proportion de glycérine (50 p. 1000) dans le bouillon de culture rend difficile l'étalement sur lame d'une goutte du liquide, le liquide se ramassant toujours en une goutte dont la dessiccation est très longue, sinon impossible ; aussi il faut se débarrasser de la glycérine, et pour cela centrifuger la culture qu'on veut examiner, décanter le liquide qui surnage, le remplacer par une quantité approximativement égale de sérum physiologique, agiter, centrifuger à nouveau et ainsi laver les éléments bacillaires quatre ou cinq fois ; alors l'étalement, la dessiccation et la coloration sont devenus possibles.

Voici l'énumération et l'étude détaillée de ces diverses cultures :

A. — Cultures d'origines humaines

1^{re} Culture homogène humaine A ou culture A, ainsi désignée pour rappeler le nom du Professeur Arloing qui l'obtint à l'état homogène, et qui l'em-

ploya pour le séro-diagnostic. C'est la culture type, la première culture rendue homogène, et c'est celle qui est répandue aujourd'hui dans le monde entier pour l'étude du séro-diagnostic tuberculeux ; — c'est la plus étudiée et la mieux connue des cultures homogènes.

Comme caractères physico-biologiques, il faut noter tout d'abord que cette culture est très riche, pousse très vite et d'une façon très homogène ; il est presque impossible de la centrifuger complètement, et elle ne donne aucun dépôt après plusieurs semaines de repos complet. Son odeur rappelle celle de la rose, odeur caractéristique des cultures du bacille de Koch. Sa virulence est variable, tantôt faible, même pour le cobaye, tantôt assez marquée pour le lapin. (Voir sur ce point les différents travaux de S. Arloing sur la tuberculose occulte, etc.). Quant à sa vitalité, il résulte d'expériences entreprises au laboratoire par M. Gaté, que la culture A cesse de pousser lorsqu'on la chauffe au bain-marie à 68° pendant cinq minutes ; la température optima est celle de l'étuve à 37°. Mais le Professeur Arloing a pu la faire pousser jusqu'à +42° et c'est avec une culture développée dans de telles conditions, qu'il obtient un vaccin contre la tuberculose, vaccin employé chez les bovidés. D'autre part, M. le Professeur Paul Courmont (1) a pu faire pousser en été la culture A à + 24° température du laboratoire.

(1) P. Courmont et Potet : les bacilles acido-résistants comparés au bac. de Koch. (Archives de Méd. expériment. Janvier 1903).

L'examen direct d'une goutte de cette culture permet de constater que les bacilles sont nombreux, de longueur moyenne, bien isolés les uns des autres, souvent branchés en V, en Y... ils sont doués de mouvements lents, peu actifs. L'examen des éléments microbiens après coloration a été fait avec trois cultures : l'une, jeune, âgée de 15 jours, la seconde âgée de deux mois, et la troisième âgée de 4 mois, traitées les unes et les autres par quatre lavages successifs, comme il a été indiqué plus haut. On voit dans ces conditions que les éléments bacillaires sont plus nombreux dans les cultures âgées, dans la culture jeune on voit qu'un certain nombre d'éléments sont colorés en bleu par la méthode de Ziehl-Hauser (1) ; ces éléments qui se laissent décolorer par l'acide lactique sont assez rares dans les cultures âgées, surtout dans la culture de quatre mois. Après coloration, les bacilles paraissent très abondants, bien isolés, longs et fins. Par la méthode de Gram tous les bacilles sont colorés en violet, mais dans chaque élément la matière colorante est fixée sur des condensations protoplasmiques qui forment ainsi des masses violettes séparées par des espaces clairs, et qui font ressembler le bacille de Koch à une chaînette de 3 ou 4 streptocoques. Dans la culture jeune les éléments sont peut-être un peu plus longs et plus grêles que dans la vieille culture.

(1) Pour les détails de la coloration des bacilles, voir J. Courmont Précis de bactériologie 4^e ed. p.484.

2° Culture humaine H.

M. le Professeur Paul Courmont a ainsi qualifié cette culture pour rappeler qu'elle provient d'une culture en milieu solide dû à l'obligeance de M. Heymans, de Gand, qui l'isola en 1901 d'un cobaye inoculé avec des crachats tuberculeux humains. Elle fut rendue assez rapidement homogène par M. Paul Courmont.

Ses caractères organoleptiques actuels sont les suivants : la culture est homogène, mais après 24 heures de repos, on constate qu'un dépôt commence à se former ; si on reste 48 heures sans agiter le matras, le dépôt est très abondant ; aussi cette culture est-elle facile à centrifuger. Son odeur est assez accentuée ; sa virulence est faible, et du reste, il est à remarquer que la vitalité de cette culture a décliné progressivement, puisqu'en 1901 elle présentait les mêmes caractères physiques, l'homogénéité, et presque les mêmes propriétés biologiques que la culture A.

Cependant l'examen direct d'une goutte montre que la culture H est pure, que ses éléments ont un aspect grenu, sont plus ou moins bien isolés les uns des autres, mais sont peu nombreux et peu mobiles. Pour la culture jeune, la coloration de Ziehl-Hauser montre de nombreux éléments colorés en bleu, alors qu'on n'en trouve plus dans les cultures âgées ; ils prennent bien le Gram, la coloration du bacille ne se faisant pas d'une façon homogène, mais par petits grains.

3° *Culture humaine R.*

C'est une culture russe, due à l'obligeance de M. Bronstein, de Moscou. Le bacille souche a été isolé de crachats tuberculeux chez M. Maragliano. Elle a été rendue partiellement homogène par M. Bronstein et elle est cultivée à Lyon depuis 1901.

Elle présente un peu les mêmes caractères que ses congénères ; mais elle pousse un peu moins bien, moins vite, et d'une façon moins exubérante ; elle est homogène, mais après un repos de 24 heures elle présente un dépôt assez accentué et après 48 heures elle est complètement déposée. Elle se centrifuge avec la plus grande facilité.

L'examen direct d'une goutte montre une culture pure, avec de nombreux bacilles grenus, petits, peu mobiles, accolés les uns aux autres. Après coloration par le Ziehl, la culture jeune montre des bacilles très petits et presque rouges ; les éléments qui n'ont pas résisté à l'action de l'acide lactique sont très rares ; de même pour les cultures plus âgées ; dans ces dernières les bacilles sont nombreux, mais aussi plus gros. Toutes les cultures gardent le Gram.

4° *Culture humaine K B.*

La culture humaine K B (Koch-Baldwin) a été rapportée des Etats-Unis d'Amérique, en 1904, par M. le Professeur Paul Courmont. Elle lui fut donnée par M.

Baldwin dans son laboratoire de Saranac-Lake. Celui-ci la tenait de M. C. Vaughan (de Ann-Arbor, Michigan) qui l'avait lui-même rapportée du laboratoire de Koch en 1888, lorsque Karl Froenkel y faisait les travaux pratiques de bactériologie.

L'échantillon sur pomme de terre donné à M. Paul Courmont était la 112^e génération de la première culture de bacille tuberculeux obtenue par Koch en 1882. De 1888 à 1898 la virulence de la culture s'était fort atténuée et avait, en culture sur pomme de terre, revêtu le type aviaire ; en effet l'échantillon sur pomme de terre était légèrement mamelonné, blanchâtre, mais de consistance et d'aspect un peu crémeux et non pas sec et écailleux comme le sont habituellement les cultures de bacilles humains. Cet échantillon rapporté à Lyon a été cultivé depuis de façon ininterrompue sur pomme de terre et actuellement encore (Novembre 1911) cette culture sur pomme de terre ressemble à s'y méprendre à un échantillon de tuberculose aviaire : petits mamelons blanchâtres, d'aspect crémeux, humide et onctueux.

La culture Baldwin-Koch fut rendue facilement homogène par M. Courmont en quelques semaines par simple ensemencement et agitation à la main en bouillon convenable ; mais pendant plusieurs années elle resta cependant moins facilement homogène, déposant assez abondamment.

Voici, à propos de cette culture un fait curieux qu'il est intéressant de rapporter ici : lors d'un deuxième voyage en Amérique, en 1908, M. Paul Courmont apprit que M. Baldwin avait également rendue homo-

gène la culture en question depuis 1904, et qu'elle s'était de suite montrée très agglutinable, alors qu'en France elle ne l'avait pas été. Réciproquement la culture A, donnée en 1904 par M. Paul Courmont, montra une agglutinabilité faible, si bien que M. King-Horn fut obligé de la faire passer souvent sur pomme de terre, pour parer à cet affaiblissement de l'agglutinabilité.

Actuellement, la culture K B est très homogène, pousse très bien, et assez vite, mais elle n'est pas très exubérante ; elle ne donne pas de dépôt après un repos de 48 heures ; cependant elle n'est pas très difficile à centrifuger ; son odeur rappelle celle de la culture A.

L'examen direct d'une goutte montre une culture pure, contenant des bacilles très nombreux, fins, bien isolés et très mobiles. Après coloration par le Ziehl-Hauser la culture de quinze jours montre un très grand nombre de bacilles petits, colorés en rouge et quelques éléments en bleu ; ces éléments bleus disparaissent dans les cultures âgées qui ne montrent que des bacilles courts, trapus, uniformément colorés en rouge ; ils se colorent bien et d'une façon homogène par la méthode de Gram.

B. — Culture d'origine bovine.

Culture Bovine K.

Ainsi dénommée parce qu'elle provient de Krahl, de Prague ; cultivée depuis déjà quelque temps au labo-

ratoire, elle a été rendue homogène par le Professeur Arloingen 1903, et a été ainsi entretenue régulièrement depuis cette époque.

Les caractères physico-biologiques ne diffèrent de ceux de la culture A que par peu de points : elle est très homogène, très riche, ne donne aucun dépôt même après plusieurs jours de repos complet, elle est très difficile à centrifuger ; mais à l'examen direct d'une goutte, on voit que les éléments de la culture Bov. K sont sensiblement plus gros, et plus longs que les bacilles de la culture A ; beaucoup sont très mobiles. La virulence de cette culture est variable, tantôt à peu près nulle pour le lapin (janvier 1911), tantôt très forte (juillet 1911) puisqu'elle tua successivement les deux lapins auxquels elle avait été injectée ; du reste nous reviendrons sur cette question lorsque nous parlerons de nos animaux d'expériences.

Quant à la coloration des bacilles, on ne trouve d'éléments colorés en bleu par le Ziehl-Hauser que dans la culture jeune ; ils sont absents dans les cultures âgées qui ne présentent que des bacilles colorés en rouge ; ils prennent tous le Gram ; les éléments microbiens apparaissent par l'examen direct ou après coloration, très longs, fins et très nombreux. Par le Ziehl et et par le Gram, la coloration se fait par grains de condensation protoplasmique.

C. — Cultures d'origine aviaire.

Les deux cultures employées ont été rendues homogènes par M. P. Courmont et étudiées au point de vue

agglutination par MM. J. Nicolas et P. Courmont en 1903 (1).

1. — *Culture Aviaire L*

Ou culture aviaire du laboratoire. Isolée par M. Nocard, cette culture était entretenue au laboratoire de médecine expérimentale depuis plusieurs années, lorsqu'elle fut homogénéisée en juin 1903 par M. le professeur Paul Courmont en partant d'une culture grasse sur gélose ; du reste, l'accoutumance à l'état homogène fut assez difficile à obtenir, et encore aujourd'hui, si elle pousse facilement en bouillon et si elle est assez riche, elle donne en revanche, lorsqu'on reste quarante-huit heures sans l'agiter, un dépôt léger ; elle se laisse facilement centrifuger ; son odeur et sa virulence n'ont rien de caractéristique.

L'examen direct montre que la culture est pure, ses éléments sont gros, assez nombreux, mobiles, et bien séparés les uns des autres. Après coloration par le Ziehl-Hauser, on constate dans les deux premières cultures, la présence d'un certain nombre d'éléments bleus, tandis que tous les bacilles de la culture de quatre mois paraissent rouges. Tous les bacilles gardent le Gram, en présentant des points de condensation protoplasmique.

(1) P. Courmont et Nicolas. Agglutination des bacilles de la tuberculose aviaire. (C. R. Soc. de Biologie, 12 mars 1904).

2. — *Culture Aviaire H*

Ou culture aviaire Hueppe, car la souche en a été envoyée d'Allemagne par M. Hueppe. C'est en 1903 qu'elle a été rendue homogène par M. le professeur Paul Courmont. A l'heure actuelle, c'est une culture qui pousse d'une façon bien homogène et assez facilement. Mais après 48 heures de repos, on constate qu'elle présente un léger dépôt ; elle se laisse centrifuger avec une certaine difficulté ; sa virulence est faible, ainsi d'ailleurs que celle de sa congénère la culture Aviaire L, même pour les oiseaux.

A l'examen direct d'une goutte, on voit que la culture est pure, que les éléments sont peu nombreux, gros et mobiles. Après coloration par le Ziehl-Hauser, on constate dans la culture de quinze jours et dans celle de deux mois un nombre appréciable de bacilles colorés en bleu ; dans la culture de quatre mois, tous les éléments sont gros, colorés en rouge. La matière colorante est uniformément répartie sur le corps bacillaire, qui garde aussi le Gram.

Nous en avons maintenant terminé avec l'étude des propriétés physiques des cultures homogènes et si nous essayons d'en esquisser un résumé, nous dirons que toutes ces cultures présentent des caractères communs : elles sont homogènes, mais avec des différences dans l'isolement des bacilles les uns des autres, dans leur

aptitude à rester spontanément homogènes pendant un temps plus ou moins long, dans leur faculté de végétation.

Les éléments des cultures sont également acido-résistants à partir d'un certain âge. Mais dans les cultures jeunes, un certain nombre de bacilles sont un peu moins résistants à l'action des acides (ce sont ceux qui apparaissent en bleu dans les préparations colorées par la méthode de Ziehl-Hauser) ; ce sont les éléments jeunes des cultures, qui disparaissent rapidement dans les cultures de un mois et demi à deux mois. Toutes ces cultures présentent une virulence assez variable, suivant leur âge, l'espèce animale inoculée, etc.

Enfin, si nous voulons établir une classification de ces cultures en tenant compte de leur degré d'homogénéité, de leur stabilité et de leur vitalité, nous donnerons la première place à la culture A, puis nous placerons ensuite les cultures Bov. K et K.B, puis les deux cultures aviaires, et nous mettrons à la fin les cultures H et R.

CHAPITRE II

Expériences faites pour rechercher l'agglutinabilité et le pouvoir agglutinogène des cultures homogènes

Nous arrivons maintenant à nos expériences ; nous allons les exposer dans leur détail, tant à propos des animaux, que des inoculations.

Les expériences de MM. Arloing et Paul Courmont furent faites sur des chiens ; la difficulté de nous procurer une quinzaine de ces animaux fit que nous fûmes obligés de nous adresser au lapin, animal plus maniable et plus facile à se procurer.

Nos expériences ont commencé au début de l'année 1911 ; nous avons fait deux séries d'inoculations, donc deux séries d'agglutinations, la première en février-mars, la seconde en juin-juillet.

I. — Première série. Février-Mars 1911.

Inoculations. — Cette série commence par les inoculations faites le 7 février 1911. Sur les conseils du regretté Professeur Arloing, nous injectons à chaque lapin une solution assez diluée de culture homogène : on prend 9 centimètres cubes de sérum physiologique et 1 c.c. de culture ; on mélange soigneusement et on injecte au lapin 1 c.c. du liquide ; en définitive, le lapin reçoit donc 1/10 de c.c. de culture pure ; — l'inoculation est faite dans la veine marginale de l'oreille gauche. Quant aux cultures, ce sont des cultures du 10 décembre 1910 : elles sont donc âgées de deux mois environ.

Les lapins, à partir du jour de leur inoculation, sont pesés soigneusement toutes les semaines ; ils sont surveillés attentivement, de façon à se rendre compte des modifications qui pourraient se présenter dans leur état.

Nous allons indiquer pour chaque animal les pesées à l'inoculation, et les pesées à la saignée, quarante-cinq jours plus tard ; nous signalerons aussi les modifications qui se seront présentées dans leur manière d'être.

Lapin A : à l'inoculation, 2.270 gr. à la saignée, 2.420

— R	—	1.740	—	2.020
— KB	—	2.170	—	2.500
— Bov K	—	2.400	—	2.350
— Av. L	—	2.200	—	2.550
— Av. H	—	2.000	—	2.150
— H	—	2,500,	15 jours après	2.020

En résumé, et d'une façon générale, l'état des animaux est satisfaisant et leur poids reste à peu près stationnaire. Exception doit être faite pour le lapin H, que nous avons à dessin placé à la fin de la série : cet animal perd rapidement (en 15 jours) 500 gr., se cachectise ; aussi on juge prudent de le sacrifier le 13 mars, douze jours avant ses congénères. Quant aux autres, ils sont saignés à blanc le 24 mars 1911 : ils sont donc restés inoculés pendant quarante-cinq jours.

Voici comment on recueille le sérum, avec toutes les précautions nécessaires pour éviter la moindre contamination. Le lapin est fixé sur la planchette à vivisection ; on fait une incision sur la partie latérale gauche du cou, on met la carotide à nu, et on la lie sur une fine canule en verre stérilisée ; le sang est recueilli au moyen d'un tube de caoutchouc, dans de grandes éprouvettes stériles. A l'autopsie des animaux on ne remarque aucune lésion spécifique macroscopique ; on ne peut que signaler une augmentation notable du volume du foie et de la rate.

Ainsi prélevé, le sang est laissé au repos dans la glacière, et, après coagulation et rétraction du caillot, on décante le sérum qu'on répartit dans de petits tubes de quatre à cinq cent. cubes environ. C'est dans ces petits tubes que nous puiserons le sérum nécessaire à nos agglutinations.

Ces agglutinations furent faites du 25 au 30 mars 1911, car pour certaines cultures à taux d'agglutination élevé, nous fumes obligés de tâtonner et de recommencer deux ou trois fois pour atteindre enfin le chiffre limite. Ces agglutinations furent faites suivant la

technique exposée plus haut : par conséquent, nous n'y reviendrons pas.

Les cultures agglutinées étaient du 8 février 1911 ; elles étaient donc âgées de deux mois et demi environ.

D'autre part, toutes les cultures ne poussent pas avec la même intensité, avec la même exubérance ; à volume égal, les cultures H, R, KB ne sont pas aussi riches en éléments microbiens, que la culture A ou la culture Bov K, et si on les diluait, comme la culture A, de 70 fois leur volume d'eau salée, la dilution serait trop forte ; les liquides agglutinables n'étant pas comparables, les résultats des agglutinations ne le seraient pas non plus. Aussi nous avons opéré de la manière suivante : nous diluons la culture étalon A, dans l'éprouvette graduée, de 70 volumes d'eau ; — dans une éprouvette semblable, nous ajoutons à la culture H, par exemple, la quantité d'eau salée suffisante pour obtenir un liquide présentant la même opalescence que la dilution de la culture A. Nous opérons ainsi pour toutes les autres cultures, et voici les diverses quantités de solution isotonique qu'il nous a fallu ajouter à 1 volume de culture pour obtenir des mélanges comparables.

Culture A	70 volumes
— H	35 —
— R	
— KB	
— Bov K	45 —
— Av. L	
— Av. H	40 —

Voici maintenant le tableau II qui condense tous les résultats des agglutinations : dans la colonne verticale sont toutes les cultures agglutinées ; la colonne horizontale indique le sérum agglutinant, sérum désigné par le nom de la culture qui a été inoculée à l'animal dont il provient.

D'autre part, tous ces chiffres que nous indiquons sont des chiffres limites. Prenons par exemple la culture A qui est agglutinée à + 300 par le sérum A : c'est-à-dire que 1 goutte de sérum A agglutine 300 gouttes de culture A, et n'agglutine pas au-delà. Autre exemple : la culture A est agglutinée à $\pm$ 100 par le sérum Bov K, ce qui veut dire que 1 goutte de sérum Bov K agglutine franchement 90 gouttes de culture A, que l'agglutination se fait péniblement, mais sans aucun doute, avec 100 gouttes de culture, mais qu'elle ne se fait pas avec 110 gouttes.

Renseignements complémentaires pour le tableau II.

1. Taux de dilution des cultures.

Cultures A	70 volumes
— H, R, K, B	35 —
— Bov. K, Av. L. . . .	45 —
— Av. II	40 —

2. Age des cultures.

Pour les inoculations les cultures étaient âgées de 2 mois.

Pour les agglutinations elles avaient 65 jours.

3. Les lapins sont restés inoculés 45 jours.

4. Les agglutinations ont été faites du 25 au 30 mars 1911.

TABLEAU II

Première série d'inoculations : février-mars 1911.

SÉRUMS Agglutinants	CULTURES AGGLUTINÉES							
	Humaines				Bovine	Aviaires		
	A	H	R	K B	Bov. K	Av. L	Av. H	
A	+ 300	0	0	+ 10	+ 100	+ 20	± 30	
H	± 30	0	0	+ 50	+ 20	+ 100	+ 100	
R	± 100	0	0	+ 30	+ 100	+ 100	+ 100	
K B	+ 10	0	0	+ 50	+ 10	+ 70	+ 100	
Bov. K	± 100	0	0	— 5	+ 100	± 50	± 5	
Av. L	+ 30	0	0	+ 30	+ 50	+ 100	+ 100	
Av. H	+ 5	0	0	+ 5	+ 10	± 10	± 30	

II. — Deuxième série. Juin-Juillet 1911.

Les résultats obtenus par ces premières recherches nous frappent de suite par un fait nouveau et intéressant : les cultures aviaires qui n'avaient jamais été agglutinables en 1903, qui l'avaient été un peu en 1908, lors d'essais faits par M. le Professeur Paul Courmont, le sont devenues, et même le sont à un taux assez élevé ; — d'autre part, la nouvelle culture K B se laisse bien agglutiner. Aussi, afin de confirmer ces résultats, nous décidons de faire une nouvelle série d'expériences.

Le 2 juin 1911, nous reprenons une nouvelle série de sept lapins, d'un poids moyen de 2.500 grammes, et leur injectons dans la veine marginale de l'oreille gauche, 2 centimètres cubes de liquide contenant 0 c.c. 2 de culture homogène, pour 1 c.c. 8 de sérum physiologique. Les cultures sont du 10 mars 1911, par conséquent âgées de quatre-vingt jours environ. On surveille attentivement les lapins et douze jours après, leur poids restant stationnaire et leur état satisfaisant, on pratique une deuxième inoculation ; on leur injecte sous la peau du ventre, 1 c.c. de la culture pure déjà employée.

L'état des lapins se maintient satisfaisant, et on ne remarque aucune manifestation d'anaphylaxie, sauf pour le lapin Bov. K sur lequel nous reviendrons.

Voici les poids des animaux :

Lapins	A	1 ^{re} inoc.	2.550 gr.	2 ^e inoc.	2.800 saignés	2.450
—	H	—	2.420	—	2.610	— 2.400
—	R	—	2.200	—	2.200	— 2.100
—	KB	—	2.100	—	2.000	— 1.900
—	Av. L	—	2.320	—	2.520	— 2.400
—	Av. H	—	2.320	—	2.400	— 2.500

Quant au lapin qui a reçu la culture Bov. K, il dépérit rapidement, perd cinq cents grammes en huit jours, et on le trouve mort le 17 juin ; à l'autopsie, on ne trouve aucune lésion spécifique, on ne peut que signaler une sérosité péricardique épaisse, visqueuse, qui, inoculée au cobaye, ne donne aucun résultat. —

Pour remplacer ce lapin, on refait sur un autre une nouvelle série de deux inoculations analogues aux précédentes le 22 et le 29 juin ; mais l'animal maigrit rapidement, présente le 30 juin, c'est-à-dire le lendemain de la deuxième injection, une paralysie complète du train arrière, et de peur de le trouver mort avant qu'on ait pu recueillir son sang, on le sacrifie le 7 juillet ; son sérum est conservé à la glacière.

Les autres lapins dont l'état est resté à peu près normal (on ne peut guère noter qu'une faible perte de poids), sont saignés complètement le 17 juillet. Ils sont donc restés inoculés pendant quarante-cinq jours, sauf le lapin Bov. K qui n'est resté que seize jours.

Les agglutinations sont faites immédiatement du 18 au 20 juillet 1911. Les cultures employées sont du 19 mai : elles ont donc deux mois environ. Quant aux dilutions des cultures, voici les taux employés :

Culture A	70 volumes	
— H	} 35	—
— R		
— K B		
— Bov. K	45	—
— Av. L	50	—
— Av. A	45	—

Voici le tableau condensant les résultats obtenus dans cette deuxième série de recherches. (Tableau III):

TABLEAU III

Deuxième série d'inoculations : juin-juillet 1911.

SÉRUMS Agglutinants	CULTURES AGGLUTINÉES						
	Humaines				Bovine	Aviaires	
	A	II	R	KB	Bov. K	Av. L	Av. H
A	+ 200	0	0	± 150	+ 300	+ 10	+ 30
H	+ 40	0	0	+ 350	± 50	+ 220	+ 450
R	± 100	0	0	+ 500	+ 150	+ 250	+ 450
K B	± 40	0	0	+ 170	+ 10	+ 150	+ 300
Bov. K	± 70	0	0	+ 10	± 150	— 5	+ 15
Av. L	+ 10	0	0	+ 10	+ 5	+ 10	+ 10
Av. H	+ 20	0	0	+ 70	+ 10	± 50	+ 150

III. — Agglutinabilité des cultures homogènes par des sérums de diverses origines.

Toutes les recherches précédentes ont porté sur les agglutinations obtenues en faisant agir sur les cultures homogènes des sérums d'animaux inoculés avec ces mêmes cultures homogènes. Mais parallèlement, nous avons recherché l'agglutination qu'on pouvait obtenir en faisant agir sur les cultures des sérums étrangers, et nous nous sommes adressés :

a) A des sérums de sujets naturellement tuberculeux, et nous avons pris des sérums humains qui sont envoyés journellement au laboratoire par les services hospitaliers de Lyon.

b) A des sérums de sujets rendus expérimentalement tuberculeux, c'est-à-dire des cobayes auxquels on avait injecté des produits tuberculeux : liquide pleural, ganglions, etc... et un chien.

c) Enfin au sérum d'un animal naturellement agglutinant, la chèvre.

Voici, dans un tableau, les résultats de ces diverses agglutinations, qui ont été faites en juillet et en novembre 1911 ; pour les indications relatives aux cultures, se reporter au tableau précédent.

TABLEAU IV

Agglutination des Cultures homogènes par les sérums humains.

SÉRUMS AGGLUTINANTS		CULTURES AGGLUTINÉES							
MALADES	DIAGNOSTIC	A	H et R	KB	Bov. K	Av. L	Av. H		
Cot.....	Tuberc.fibreuse	+ 80	0	+ 50	+ 50	+ 30	+ 80		
Luis.....	id.	+ 30	0	+ 5	+ 30	+ 5	+ 10		
Ganc.....	Tub. fibro-caséuse.	+ 20	0	+ 20	+ 15	+ 20	+ 30		
Bord.....	Tub. fibreuse..	+ 15	0	+ 5	+ 10	+ 10	+ 10		
Gir.....	Pleurésie	+ 15	0	+ 5	+ 15	± 20	+ 30		
Liqu. pleur. Gir.	—	+ 15	0	+ 5	+ 10	+ 5	+ 20		
Ard.....	Tub. fibreuse..	+ 10	0	+ 5	+ 5	+ 5	+ 10		
Latr.....	Tub. au début.	+ 10	0	+ 5	+ 10	+ 10	+ 15		
Plat.....	Cancer de l'est.	+ 5	0	+ 5	+ 5	— 5	+ 5		
Meys.....	Cardiopathie ..	+ 3	0	— 3	+ 5	— 5	+ 5		
Bony.....	Tub. cavitaires.	— 3	0	— 3	— 3	— 3	— 3		
SÉRUMS D'ANIMAUX									
Cobaye Lefr...	Tuberculose ...	+ 10	0	— 5	— 5	— 5	+ 5		
Cob. Coll.....	id.	+ 5	0	+ 5	+ 5	± 10	+ 5		
Cob. Nic.....	id.	+ 15	0	+ 5	+ 5	+ 10	+ 5		
Chien tubercul.	Inocul. de Cult. A.	+ 300	0	+ 200	+ 450	+ 120	+ 200		
Chèvre normale		+ 50	0	+ 30	+ 30	+ 50	+ 70		

Pouvoir agglutinogène des Cultures homogènes

Le pouvoir agglutinogène d'une culture est la faculté qu'a cette culture de rendre agglutinables les humeurs de l'animal auquel on l'a injectée.

Toutes nos cultures homogènes ont été agglutinogènes ; d'une façon générale, le pouvoir agglutinogène a été plus élevé dans la série de juillet que dans celle de mars, sauf peut-être pour la culture Bov. K ; cette augmentation du pouvoir agglutinogène, ne peut s'expliquer que, par ce fait que les cultures inoculées l'ont été à des doses plus fortes dans la seconde série que dans la première ; rappelons, en effet, que les premières inoculations n'ont été que de un dixième de centimètre cube, alors que les secondes ont consisté dans deux injections, l'une de un dixième de centimètre cube, l'autre de un centimètre cube de culture pure. Quant au lapin Bov. K, de la série de juillet, il faut rappeler qu'il n'est resté inoculé que seize jours.

Donc, pour la seconde série, la dose injectée ayant été bien plus élevée, il n'est pas étonnant que les animaux aient réagi davantage.

Voyons maintenant, en détail, le pouvoir agglutinogène.

A. — *Cultures humaines.*

1. Culture A : La culture A a donné un sérum assez agglutinogène, en particulier pour elle-même et pour la culture bovine K.

2-3. Cultures H et R : Ces deux cultures qui marchent toujours de pair, ont donné un sérum excessivement agglutinant, qui a eu une action énergique sur les cultures aviaires, puisque ces cultures ont été agglutinées jusqu'à 1 : 450 et sur la culture K B.

4. Culture K B : Cette culture a donné un sérum agglutinant, surtout pour elle-même et pour les cultures aviaires.

B. — *Culture Bovine.*

La culture bovine K a été agglutinogène en particulier pour elle-même et pour la culture A ; son action agglutinogène est donc superposable à celle de la culture K B.

C. — *Cultures Aviaires.*

1. La culture Av. L., a été relativement peu agglutinogène dans la série de juillet ; elle l'a été surtout pour les cultures aviaires et pour la culture K B.

2. Enfin, la culture Av. H a été la moins agglutinogène de toutes les cultures, et son action s'est surtout fait sentir, en particulier dans la seconde série, sur les cultures aviaires et sur la culture K B.

Donc, en résumé, quant au pouvoir agglutinogène, on peut dire que les plus actives sont les cultures H et R, puis viennent ensemble A et bovine K ; enfin, les cultures K B, aviaire L et aviaire H, ont eu un pouvoir agglutinogène en tous points comparables.

En 1903, toutes les cultures homogènes avaient été agglutinogènes ; nous voyons que ce caractère se répète également dans toutes nos expériences, et la constance de cette propriété des cultures homogènes est un fait très important et du plus haut intérêt.

En effet, la persistance de cette faculté de donner par leur inoculation un sérum agglutinant est une des propriétés les plus stables des cultures homogènes, et la seule qui soit commune aux sept types de culture ; aussi cette propriété commune permet de rapprocher les divers types de tuberculose : si l'inoculation de bacilles aviaires, humains ou bovins permet d'obtenir des sérums ayant un pouvoir agglutinant sur les cultures homogènes agglutinables, quelle que soit leur origine, c'est que ces bacilles aviaires, humains et bovins font partie d'une même famille, et sont même très proches parents les uns des autres. Cette proposi-

tion est appuyée en outre par ce fait démontré par MM. Paul Courmont et Descos, que les divers bacilles acido-résistants du beurre, du lait, de Rabinowitsch, de Korn et autres, ne sont pas agglutinés par le sérum d'animaux spontanément et expérimentalement tuberculeux, et surtout qu'ils ne sont pas agglutinogènes pour les cultures de bacilles tuberculeux, et s'ils le sont, ils le sont à peine. C'est là un grand point qui permet de séparer absolument tous ces divers bacilles acido-résistants, des bacilles tuberculeux de Koch, qui, même lorsqu'ils ne sont pas agglutinables, sont tous agglutinogènes.

La propriété agglutinogène paraît liée à certaines qualités des cultures homogènes, et il semble que si nos cultures homogènes ont un pouvoir agglutinogène assez élevé, c'est qu'en général, elles sont peu virulentes. M. le Professeur Paul Courmont a montré que l'inoculation de la culture H solide, qui est assez virulente, donnait un sérum moins agglutinogène que l'inoculation de la même culture liquide homogène, qui est peu virulente. D'autre part, dans notre seconde série d'expériences, nous avons vu que la culture Bov. K, qui s'était montrée assez virulente, puisque à deux reprises elle déterminait des accidents chez l'animal inoculé, n'avait développé chez cet animal qu'un assez faible pouvoir agglutinant. Cependant la virulence étant une propriété très variable, il n'est pas possible d'établir de rapport fixe entre la virulence et le pouvoir agglutinogène.

Enfin quant au rapport entre l'agglutinabilité et le

pouvoir agglutinogène d'une culture homogène, nous verrons lors de l'étude de l'agglutinabilité dans le prochain chapitre, qu'il n'est pas possible d'en établir de constant.

CHAPITRE IV

Agglutinabilité des cultures homogènes.

Si on parcourt d'une façon générale les tableaux II et III, on est tout d'abord étonné par la grande variabilité des chiffres qu'ils contiennent et par les différences souvent considérables que présente l'agglutinabilité des diverses cultures homogènes : telle culture est agglutinée à 1 : 500, telle autre à 1 : 300, une troisième enfin atteint à peine 1 : 10. D'autre part ces différences se retrouvent pour une même culture éprouvée avec les divers sérums : la culture A par exemple est agglutinée à 1 : 300 par le sérum A, à 1 : 100 par le sérum R, à 1 : 10 par le sérum Av. L.

Disons de suite que ces différences importent peu ; ce qu'il faut savoir, c'est si telle culture est agglutinable, ou ne l'est pas ; quant au chiffre obtenu, il indique seulement d'abord le pouvoir agglutinogène du sérum employé, et ensuite le degré d'agglutinabilité de la culture employée. Les écarts d'agglutinabilité que peut en conséquence présenter une culture vis-à-vis de tel

ou tel sérum, certes sans être négligeables, ne viennent toutefois qu'au second plan, et ne peuvent pas nous arrêter bien longtemps.

I. — Résultats obtenus.

En nous appuyant sur les tableaux qui résument et condensent toutes nos expériences, nous allons maintenant analyser les résultats obtenus, les discuter, les comparer à ceux de 1903, et chercher à en tirer des conclusions.

A. — *Cultures humaines.*

Sur les quatre cultures humaines homogènes, on remarque de grandes variabilités dans l'agglutinabilité.

1. — Culture A : de même qu'en 1903, la tuberculose homogène A s'est montrée constamment agglutinable, et à un taux assez élevé. C'est par son sérum homologue qu'elle a donné l'agglutination la plus forte (1 : 300) mais elle a été parfaitement agglutinée par tous les autres sérums des animaux inoculés dans les deux séries ; les chiffres obtenus sont en général plus élevés pour la série de Juillet que pour celle de Mars ; et du reste cette remarque va s'appliquer, comme on pourra le constater, à toutes les cultures : nous croyons d'ailleurs avoir donné une explication de ces différences en étudiant

le pouvoir agglutinogène. Enfin la culture A a été agglutinée par le sérum de malades cliniquement tuberculeux et par le sérum d'animaux rendus tuberculeux par des inoculations de produits divers, liquides de pleurésie, d'ascite, etc. Donc, les résultats que nous avons obtenus avec la culture A sont en tous points superposables à ceux obtenus en 1903.

2. 3. — Culture H. et R : ces deux cultures n'ont été agglutinées par aucun sérum, pas même par le sérum homologue ; ces deux cultures sont restées absolument inertes vis-à-vis des sérums les plus agglutinants. La culture R n'a jamais été agglutinable, elle le reste encore à l'heure actuelle.

Quant à la culture H nous avons vu qu'elle est passée par des phases diverses : d'abord très agglutinable (tableau I, début de 1903), la culture H a présenté ensuite une disparition progressive de cette propriété, disparition qui est complète à la fin de 1903. Depuis cette époque on a quelquefois essayé sur cette culture des sérums agglutinants, ils sont restés sans action. Donc la culture H reste non agglutinable, et la persistance de cette non agglutinabilité coïncide avec la persistance des caractères physiques constatés en 1903 et que nous avons retrouvés tels huit ans après : culture maigre, déposant facilement avec bacilles petits, assez mal isolés les uns des autres.

4. — Culture K B : La culture K B s'est montrée excessivement agglutinable, et en particulier dans la série de Juillet, son agglutinabilité a atteint un taux très élevé, un des plus élevés que nous ayons obtenus, 1 : 500. Bien agglutinée par le sérum homologue

(1 : 170), elle l'a été encore davantage par les sérums hétérologues. Pour les sérums humains et animaux, elle s'est montrée un peu moins agglutinable que la culture A mais sauf un cas, tous les sérums qui ont agglutiné A ont agglutiné K B.

Or, lorsque nous avons parlé de la culture K B, nous avons vu que si elle n'était pas agglutinable en France, elle l'avait été très fortement en Amérique, dans le laboratoire de M. Baldwin, alors que la culture A ne l'était presque pas. Aujourd'hui, la culture K B se laisse très bien agglutiner en France ; pourquoi ? il est difficile de le dire, mais peut-être est-il permis de penser que depuis sept ans qu'elle pousse en France, la culture K B s'est plus complètement adaptée à son nouveau milieu de vie, et parallèlement il aurait été intéressant de savoir si la culture A ne se montre pas à l'heure actuelle en Amérique plus agglutinable qu'elle l'était en 1904.

En résumé, les cultures homogènes d'origine humaine peuvent se diviser en deux séries : l'une (H et R) complètement non agglutinable, l'autre (A et K B) au contraire très agglutinable, les deux échantillons de cette série présentant une grande similitude dans leur agglutinabilité.

B. — Culture Bovine.

La culture Bovine K n'a pas varié depuis 8 ans ; agglutinée à 1 : 150 par son sérum homologue, elle a été aussi agglutinée à des taux très élevés par les sérums hétérologues, ainsi que par tous les autres

sérums humains et animaux. Tous les sérums qui ont agglutiné la culture A ont aussi agglutiné la culture Bov. K et dans des proportions absolument superposables ; aussi on peut conclure qu'au point de vue agglutinabilité la culture Bov. K est celle qui se rapproche le plus de la culture A.

C. — Cultures Aviaires.

En 1904, dans une note à la Société de Biologie, MM. P. Courmont et Nicolas avaient insisté sur le pouvoir agglutinogène et sur la non agglutinabilité de certaines cultures aviaires. En 1908, MM. S. Arloing et P. Courmont notent que les cultures aviaires peu ou pas agglutinables en 1904, le sont devenues progressivement (Nouvelles cultures homogènes du bacille de la tuberculose, Congrès international de la Tuberculose, Washington 1908, Vol. I, p. 62). Mais c'est par nos expériences, que la question a pu être plus complètement étudiée.

1. — Culture Aviaire L : si on consulte les tableaux II et III on voit que la culture Av. L est bien agglutinée par les sérums H, R et K B, peu (tab. III) ou pas (tab. II) par le sérum Bov. K, et mal par les sérums A et Av. H.

2. — Culture Aviaire H : cette remarque faite pour le sérum Bov. K et la culture Av. L peut être répétée pour ce même sérum avec la culture Av. H : on a de même à peine 1 : 5. Mais tous les autres sérums ont

donné une agglutination positive à des taux comparables à ceux obtenus avec la culture Av. L.

Les deux cultures aviaires se sont en outre laissé agglutiner par les sérums humains et animaux, et là encore les chiffres obtenus sont superposables pour l'une et l'autre culture. De plus l'agglutinabilité de la culture Av. H se rapproche beaucoup de celle de la culture A : tous les liquides, sérums sanguins humains, liquides de pleurésie, sérums animaux qui ont agglutiné la culture A ont agglutiné dans les mêmes proportions la culture Av. H. Sauf un cas qui est resté négatif, les résultats obtenus avec la culture Av. L sont un peu plus faibles, mais ont toujours été positifs. Le sérum d'un malade (sérum Gauch...) essayé à deux reprises différentes et à 4 mois de distance (juillet-novembre) nous a donné les mêmes chiffres aux deux essais d'agglutination ; donc on peut dire, sans préjuger de ce qui arrivera dans l'avenir, qu'à l'heure actuelle l'agglutinabilité des cultures aviaires est stable.

Avant de passer à la discussion de ces résultats, on peut, dès à présent, essayer de grouper les cultures homogènes d'après l'agglutination. En ne tenant compte que des grandes lignes et en faisant abstraction des différences insignifiantes entre les taux d'agglutination, on peut rapprocher ou éloigner entre elles les différentes cultures homogènes.

A. — Cultures à rapprocher : ce sont d'une part les cultures A et Bov. K qui sont tout à fait comparables : leur sérum agglutine la culture homologue et hétéro-

logue à des taux sensiblement égaux ; — et d'autre part les humaines H, R et K B et les deux aviaires : ces cinq cultures donnent en effet un sérum fortement et à peu près également agglutinant pour chacune d'elles (sauf pour H et R non agglutinables).

B. — Cultures à différencier : inversement il y a des cultures parfaitement agglutinables et agglutinogènes, mais qui n'ont pas ces propriétés vis-à-vis de certains autres échantillons ; les deux cultures les plus éloignées à ce point de vue sont l'humaine K B et la Bov. K : chacune est peu ou pas agglutinée par le sérum fourni par l'inoculation de l'autre.

Les différences analogues, quoique moins accusées existent entre les cultures humaines A et K B : par exemple le sérum A agglutine à 1 : 300 la culture A, et à 1 : 10 seulement en culture K B ; et le sérum K B agglutine à 1 : 10 la culture A, alors qu'il atteint 1 : 50 avec la culture K B.

De même encore, se différencient d'une part les deux aviaires, et d'autre part le groupe A et Bov. K : on voit dans les tableaux que chaque sérum fourni par l'inoculation de A ou de Bov. K agglutine très mal les aviaires, et réciproquement.

Donc en résumé, d'après nos expériences, deux groupements de cultures : A et Bov. K dans le premier — les cinq autres cultures dans le second. — En face de ces résultats obtenus avec des sérums expérimentaux, il faut constater que ces différences disparaissent dans les agglutinations obtenues avec des sérums de malade : dans ce cas tous les chiffres obtenus coïncident à peu près, et toutes les cultures se montrent aggluti-

nables. Il est à remarquer en outre qu'une malade (Bouy...) franchement tuberculeuse, ayant des bacilles de Koch dans ses crachats, possède un sérum absolument dépourvu de pouvoir agglutinant, même pour la culture A.

Ces résultats d'uniformité d'agglutination des cultures par les sérums humains peuvent tenir à plusieurs causes ; d'abord ancienneté de l'infection des sujets humains, par rapport aux animaux de nos expériences ; ensuite, peut-être uniformité du virus infectant l'homme. Si les résultats ne sont pas aussi uniformes avec les sérums expérimentaux, cela tient inversement à plusieurs causes : virus inoculé variable, inoculation récente ; et il semble que dans ces conditions, l'organisme formant graduellement ses agglutinines, ne les forme pas en même temps, au même taux pour toutes les variétés de bacilles. Il faut peut-être enfin tenir compte de l'espèce animale que nous avons employée : le lapin n'est pas l'animal de choix, et le chien semble avoir donné en 1904 à MM. S. Arloing et P. Courmont, des résultats plus fixes, par des inoculations sous-cutanées répétées.

II. — Discussion des résultats obtenus.

Voilà l'exposé des faits : de tout ce qui précède on peut formuler les propositions suivantes, tenant à l'agglutinabilité des cultures homogènes.

*1° Variation de l'agglutinabilité des cultures
homogènes.*

Tout d'abord on ne peut pas confirmer ce que MM. Arloing et P. Courmont écrivaient en 1903 : « l'agglutination des bacilles de la tuberculose est, d'après nos expériences, une propriété contingente et variable : elle n'appartient pas à tous les échantillons de cultures homogènes ; elle peut apparaître et disparaître dans la série des générations successives d'un bacille. »

Trois exemples tirés de nos expériences viennent à l'appui de cette proposition :

a) La culture H qui a vu son agglutinabilité baisser progressivement, puis disparaître, ne l'a pas vu revenir ;

b) Ensuite la culture K B agglutinable en Amérique dès son homogénéisation, non agglutinable en France pendant plusieurs années, l'est devenue peu à peu ;

c) Enfin et surtout les cultures aviaires, qu'on peut mettre sur un même plan puisqu'elles se comportent l'une et l'autre de façon identique, constituent le meilleur exemple. Inertes pendant de nombreuses années, ces cultures se sont montrées peu à peu agglutinables et le sont maintenant à un point très avancé. Dans une note sur l'agglutinabilité des cultures aviaires (1), MM.

(1) Nicolas et P. Courmont : Agglutination des bacilles de la tuberculose aviaire, C. R. de la Soc. de Biologie ; 12 Mars 1904, p. 455.

Nicolas et P. Courmont disaient que cette non agglutinabilité ne devait pas empêcher de classer les bacilles de la tuberculose aviaire à côté du bacille de la tuberculose humaine et que l'absence de cette propriété n'était pas suffisante pour faire de ces deux bacilles deux espèces différentes. Aujourd'hui nous voyons combien la remarque de ces auteurs était juste puisque, à la suite de modifications dans leur structure intime, les cultures aviaires sont venues, par leur agglutinabilité persistante, apporter un argument décisif à leur thèse.

Actuellement les cultures homogènes au point de vue de leur agglutinabilité se divisent en deux parties :

Premier groupe : cinq cultures agglutinables : A, K B, Bov. K, Av. L et Av. H.

Deuxième groupe : deux cultures non agglutinables : H et R.

Dans la première catégorie, entrent deux cultures (A et Bov. K) qui ont toujours été agglutinables depuis l'époque où le Professeur Arloing les rendit homogènes ; les trois autres le sont devenu progressivement, à mesure que leurs propriétés physiques les rapprochaient de la culture A.

Dans la deuxième catégorie sont deux cultures qui paraissent définitivement privées d'agglutinabilité, puisque l'une n'a jamais eu cette propriété, et que l'autre l'a perdue depuis longtemps et ne paraît pas devoir la recouvrer.

Si nous voulons classer les cultures homogènes d'après leur agglutinabilité, nous mettrons en tête de la liste la culture A, et la culture Bov. K ; puis ensuite

K B et les aviaires, enfin et à part les cultures H et R.

*2° Ces variations ne tiennent pas à l'origine
de la culture.*

Puisque toutes nos cultures agglutinables, quelle que soit leur origine, ont été agglutinées par tous les sérums employés : c'est ainsi qu'on voit les cultures aviaires être agglutinées par tous les sérums, et que les deux cultures non agglutinables sont des cultures de bacilles humains.

3° Causes des variations de l'agglutinabilité.

En 1903, M. le Professeur Paul Courmont rechercha les causes qui avaient pu influencer la culture H au point de faire disparaître totalement son agglutinabilité, et il étudia la culture, le bacille, le bouillon : la culture était toujours pure, le bacille était resté le même, toujours petit, grenu, conservant son acido-résistance ; quant au bouillon, c'était dans les mêmes cantines qu'était puisé le liquide servant à ensemer toutes les cultures, entre autres celles qui restaient agglutinables. Il s'agissait donc d'une circonstance fortuite, non déterminée ayant agi sur la seule culture H. Mais si les causes restaient cachées, on pouvait constater l'apparition de signes, qui, sur la culture considérée était contemporaine des modifications de ses

propriétés biologiques : la culture était moins exubérante, le développement en était moins rapide, avec tendance à l'éclaircissement et à la formation précoce du dépôt, malgré une agitation journalière des matras. Et aujourd'hui nous constatons ces mêmes caractères sur nos cultures H et R.

Mais d'autre part, les cultures aviaires qui ont évolué dans un sens inverse de celui des cultures H et R ont-elles présenté des modifications sensibles de leurs propriétés physiques ? Si on se reporte en 1903, on voit que les caractères physiques des cultures aviaires se rapprochent beaucoup des caractères des cultures H et R : elles sont peu exubérantes, poussent lentement et ont tendance à déposer en peu de temps. Et aujourd'hui ? Si on consulte nos études des caractères physico-biologiques des cultures aviaires, on peut rapidement se rendre compte que ces cultures ne présentent plus les mêmes propriétés : elles sont devenues très homogènes, poussent très rapidement et ne donnent qu'un dépôt insignifiant, même après quelques jours de repos. Leurs bacilles sont bien isolés, bien acido-résistants. Donc elles se sont éloignées du type H et R pour se rapprocher par tous les points du type A et Bov. K, c'est-à-dire de cultures très agglutinables. Et c'est probablement dans toutes ces transformations qu'il faut rechercher les causes de l'apparition progressive de l'agglutinabilité des cultures aviaires.

4° *Conditions qu'entraîne l'agglutinabilité d'une culture homogène de bacilles tuberculeux.*

Si on essaye de synthétiser toutes les observations qui précèdent, on remarque qu'il y a un ensemble de caractères qui coexistent avec l'agglutinabilité, et on peut essayer de dégager les caractères qui sont entraînés par la présence de l'agglutinabilité d'une culture, et ceux qui lui sont indifférents. Tout d'abord il faut éliminer l'action du sérum agglutinant : si tel sérum agglutine telle culture c'est parce que cette dernière est agglutinable, et aussi parce que le sérum contient ce qu'il faut pour déceler cette agglutinabilité : donc le sérum et la culture sont deux entités complètement indépendantes.

L'*Origine* des cultures n'a aucune importance, ainsi que nous l'avons constaté plus haut, puisque parmi les cultures agglutinables il y a deux cultures humaines, une bovine, et deux aviaires, et que seules deux cultures humaines ne le sont pas.

La *Virulence* ne peut pas être mise en cause : d'abord parce qu'elle est excessivement variable et que toutes les cultures ont passé par des degrés de virulence très différents. Aussi on ne peut mettre sur le même plan la virulence, propriété des plus instables, et l'agglutinabilité, qui sans être immuable est une propriété un peu moins changeante.

Le *Pouvoir agglutinogène* mérite d'être très attentivement étudié. Nicolle (1) a soutenu la corrélation de

(1) Nicolle et Thorrel : Recherches sur le phénomène de l'agglutination. Ann. de l'Inst. Pasteur. 25 Août 1902.

l'agglutinabilité et du pouvoir agglutinogène. MM. S. Arloing et P. Courmont sont d'un avis contraire, et concluent qu'il n'en est rien pour les cultures homogènes. Si nous nous reportons à la classification que nous avons faite des cultures homogènes d'après leur pouvoir agglutinogène, nous voyons que ce sont les deux cultures dépourvues d'agglutinabilité qui ont le pouvoir agglutinogène le plus élevé, si bien qu'on pourrait soutenir que dans ces cas l'intensité du pouvoir agglutinogène de la culture paraît être en raison inverse de son agglutinabilité. D'autre part les cultures deviennent agglutinables, ou cessent de l'être sans pour cela que leur pouvoir agglutinogène augmente ou diminue. Aussi nous concluons comme MM. S. Arloing et P. Courmont : le pouvoir agglutinogène et l'agglutinabilité des cultures homogènes sont deux propriétés qui ne semblent avoir aucune influence l'une sur l'autre.

L'*Acido-résistance* vient d'être mise en cause. Dans une note à la Société de Biologie, M. Karwacki (1) signale les agglutinations obtenues par l'action de liquides pleurétiques sur un nouveau réactif : le milieu agglutinable est préparé en émulsionnant dans le liquide de Koch (Chlorure de sodium 8, phénol 5, eau distillée 1000c.c.) des bacilles tuberculeux cultivés sur gélose. Or parmi les bacilles employés par M. Karwacki, les uns sont acido-résistants, les autres ne le sont

(1) M. L. Karwacki : sur la sensibilité de divers types de bacilles tuberculeux et acido-résistants en présence des agglutinines humaines. C. R. de la Société de Biologie, 3 juin 1911. p. 925.

absolument pas, et l'auteur, en faisant des essais sur des variétés humaines et bovines, a remarqué une sensibilité plus grande chez la variété dépourvue d'acido-résistance, et il en conclut qu'« on pourrait supposer que l'agglutinabilité du groupe acido-résistant est empêchée, dans une certaine mesure, par la présence des substances adipo-cireuses qui font défaut dans les variétés de bacilles dépourvus d'acido-résistance ».

Certes le milieu qu'emploie M. Karwacki pour ses agglutinations, puisque ce n'est qu'une simple émulsion de bacilles, diffère profondément des cultures homogènes qui nous ont servi pour toutes nos expériences. Mais pouvons nous dire que la présence ou l'absence d'acido-résistance soit en rapport avec la non agglutinabilité ou l'agglutinabilité de nos cultures ? La réponse est franchement négative, car si la culture A, par exemple, n'était pas acido-résistante, tous les bacilles se coloreraient en bleu par la méthode de Ziehl-Hauser, et nous avons remarqué d'après l'examen d'un très grand nombre de préparations colorées, qu'on ne trouvait que dans les cultures jeunes un nombre relativement restreint d'éléments non acido-résistants, et que ces éléments qui apparaissaient en bleu au milieu de leurs congénères rouges, ne se rencontraient plus dans les cultures âgées d'un peu plus d'un mois. En définitive, nous avons dit que toutes les cultures homogènes étaient également acido-résistantes. Aussi nous pouvons conclure que la disparition de l'acido-résistance n'est pas une condition qui puisse expliquer seule l'agglutinabilité d'une culture.

L'Ancienneté de l'acclimatement en bouillon et à

l'état homogène est-elle une condition essentielle ? M. Rodet a montré qu'un bacille d'Eberth non agglutinable le devient par une simple série de passages successifs en bouillon. Cela est vrai pour les bacilles de la tuberculose au moment où on les accoutume à l'état homogène, « et nous espérons même, disaient MM. S. Arloing et P. Courmont, en 1903, rendre agglutinables à force d'accoutumance nos types actuellement dépourvus d'agglutinabilité ». Le temps semble avoir partiellement justifié cet espoir, puisque la culture KB et les cultures aviaires sont devenues agglutinables à mesure qu'elles s'habituèrent à l'état homogène. Mais les cultures humaines H et R vivent à l'état homogène depuis plus de 10 ans et ne semblent pas devenir agglutinables. Donc l'ancienneté de l'acclimatement au bouillon et à l'état homogène semble avoir jusqu'à un certain point une influence sur l'agglutinabilité des cultures homogènes.

Les *Modifications physiques* des cultures restent en dernière analyse les seuls caractères différentiels que nous puissions relever entre les cultures agglutinables et celles qui ne le sont pas. Nous avons vu quels sont les caractères physiques qui ont toujours distingué les cultures A et Bov. K, homogénéité parfaite, ne se détruisant qu'après plusieurs jours de repos, isolement des éléments bacillaires les uns des autres, abondance, mobilité des bacilles ; ces caractères ont été étudiés en 1903, nous les avons en 1911 retrouvés tels ; nous ne pouvons ajouter qu'une chose : c'est que l'homogénéité de la culture A est plus parfaite encore, qu'elle peut rester 15 jours sans

être agitée, et sans pour cela donner le moindre dépôt. Or si nous étudions les cultures qui sont devenues agglutinables, nous voyons que leurs caractères physiques se sont modifiés dans un sens tel que la morphologie externe de ces cultures s'est éloignée du type H pour se rapprocher du type A. Prenons les cultures aviaires qui constituent le meilleur exemple à cet égard ; en 1903 ces cultures ne poussaient ni franchement, ni abondamment, laissaient un fort dépôt après un repos de 24 heures ; on pouvait constater au microscope, à côté d'individus isolés et mobiles, de nombreux bacilles accolés et groupés en petits amas plus ou moins bien limités. Aujourd'hui, au contraire, ces cultures poussent mieux, leur homogénéité est plus parfaite, puisqu'après 48 heures de repos complet elles ne donnent qu'un très léger dépôt ; au microscope leurs éléments sont très nettement isolés et on ne peut plus constater ces amas signalés jadis ; la forme même des bacilles s'est modifiée, et les bacilles aviaires rappellent la forme des bacilles bovins. Quant aux cultures H et R leur état est tel qu'il était en 1903 ; faible exubérance, dépôt très abondant après un repos de quelques heures, donc homogénéité faible, bacilles mal isolés : tels sont les caractères physiques que nous avons relevés en étudiant ces cultures.

La *Mobilité* a une certaine importance. Nicolle a publié un travail sur les rapports étroits qui lieraient la mobilité et l'agglutinabilité des bacilles. Il est certain que pour le bacille homogène A, l'apparition de la mobilité a coïncidé avec celle de l'agglutinabilité.

Mais nous n'avons pas recherché systématiquement la mobilité des bacilles des autres cultures ; aussi nous resterons sur la réserve, quant aux relations qui existent entre la mobilité et l'agglutinabilité.

En résumé, il semble que les caractères extérieurs essentiels à l'agglutinabilité d'une culture de bacilles de la tuberculose soit sa parfaite homogénéité, l'isolement et l'indépendance des bacilles les uns des autres, l'apparition de ces différents signes pouvant être favorisée par une habitude et acclimatement progressif à la vie et à l'état homogène. Si nous comparons les deux classifications que nous avons faites des cultures homogènes, l'une d'après leurs caractères physiques, homogénéité, etc., et l'autre d'après leur agglutinabilité, nous verrons que dans ces deux classifications les diverses cultures sont rangées dans le même ordre, ce qui prouve bien que les caractères extérieurs que nous avons mentionnés et l'agglutinabilité marchent toujours de pair.

Toute cause dysgénésique nuira à l'apparition ou à la persistance de ces caractères extérieurs, et par conséquent le parfait développement à l'état homogène est une condition essentielle pour obtenir des matériaux propres à l'étude de l'agglutination et à la pratique du séro-diagnostic.

Nous avons vu que les sérums de sujets cliniquement tuberculeux ou soupçonnés tels, agglutinaient les cultures homogènes. Il est donc légitime de se servir de cette propriété pour établir un diagnostic hésitant. Aussi pour l'application du séro-diagnostic à la clini-

que on pourra se servir d'une culture agglutinable, puisque nous avons constaté que les sérums humains qui agglutinaient une culture, agglutinaient les autres dans des proportions comparables. Cependant il y aura intérêt à se servir de la culture A de préférence aux autres, parce que c'est la culture la mieux connue, la plus homogène, la plus stable, celle dont l'agglutinabilité n'a jamais varié.

CONCLUSIONS

Les conclusions de ce travail sont basées sur des observations faites sur sept cultures homogènes des bacilles de la tuberculose, pendant 13 ans, de 1898 à 1911, par MM. S. Arloing et Paul Courmont, et enfin par nous-même. Nos expériences ont porté sur des sérums de lapins inoculés avec ces cultures, et sur des sérums humains de malades du service de M. le Professeur Paul Courmont.

I. — Il y a des cultures homogènes de bacilles de Koch qui sont agglutinables et d'autres qui ne le sont pas.

II. — Certaines cultures non agglutinables peuvent acquérir progressivement cette propriété, et inversement des cultures agglutinables peuvent la perdre ; l'agglutinabilité est donc une propriété essentiellement contingente et variable.

III. — A) Ces variations dans l'agglutinabilité ne sont dépendantes :

a) Ni de l'origine des cultures, puisque parmi les cultures agglutinables on rencontre le type humain, le type bovin, le type aviaire ;

b) Ni de la virulence qui est une propriété aussi variable ;

c) Ni du pouvoir agglutinogène, puisque toutes les cultures homogènes possèdent ce pouvoir ;

d) Ni de l'acido-résistance, car les bacilles de toutes les cultures sont également acido-résistants.

B) Mais au contraire ces variations paraissent liées à l'ancienneté et à l'acclimatement en bouillon, et surtout aux modifications physiques qu'on constate chez les cultures qui deviennent agglutinables.

IV. — Les caractères physiques qui paraissent inséparables d'une bonne agglutinabilité sont : une homogénéité parfaite, la persistance de cette homogénéité dans les cultures au repos, et microscopiquement des bacilles bien isolés les uns des autres. La mobilité des bacilles semble aussi jouer un certain rôle.

V. — Toutes les cultures homogènes employées par nous ont été agglutinogènes, quelle que soit leur origine, c'est-à-dire que leur inoculation a fourni des sérums agglutinants pour les cultures agglutinables.

VI. — Les sérums de malade tuberculeux nous ont donné des agglutinations à peu près identiques sur toutes les cultures agglutinables.

VII. — Il n'y a pas de rapports précis entre l'agglutinabilité et le pouvoir agglutinogène des cultures, la présence ou l'absence de la première de ces propriétés n'étant pas un caractère qui permette de différencier les divers types de bacilles tuberculeux, le pouvoir agglutinogène étant au contraire un caractère justifiant leur rapprochement, aux dépens des autres bacilles acido-résistants.

VIII. — Nos dernières expériences sur l'agglutinabilité et le pouvoir agglutinogène réciproque des sept cultures homogènes permettent cependant de grouper entre elles, ou de séparer, à ce point de vue, certaines de ces cultures : Dans un premier groupe, les cultures humaines A et bovine K, dans un second groupe les cultures H, R, KB et aviaires L et H. Mais ces différences au point de vue de l'agglutinabilité ne se retrouvent plus vis-à-vis des sérums humains.

IX. — D'après ces faits, en pratique :

a) Le phénomène de l'agglutination ne pourra être fructueusement étudié avec toutes les cultures de bacilles de la tuberculose, même homogènes ;

b) Il faudra se servir d'un bacille bien agglutinable, quelle que soit son origine, et cultivé dans les conditions que nous avons indiquées (type humain A ou bovin

K par exemple qui sont les échantillons les plus homogènes et les plus stables) ;

c) Etant donné un tel bacille, il sera dans la généralité des cas agglutiné par les sérums tuberculeux de n'importe quelle origine, et servira ainsi au diagnostic de toute tuberculose.

Vu :

Le Président de la Thèse,

P. COURMONT.

Vu :

Le Doyen,

L. HUGOUNENQ.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 28 novembre 1911.

Le Recteur, Président du Conseil de l'Université,

P. JOUBIN.

BIBLIOGRAPHIE

On trouvera dans la thèse de Berthelon (Lyon 1904), les indications bibliographiques de la question cultures homogènes, sero-diagnostic etc... jusqu'en 1903. — Nous donnons ici la bibliographie aussi complète que possible, de 1903 à nos jours.

S. ARLOING et P. COURMONT. — Ueber den Werth der Serumreaction für die Diagnose der tuberculose (*Deutsche Med. Wochenschr.* 29 novembre 1903).

Des mêmes. — Les sérums agglutinants le B. d'Eberth ont-ils la même action sur le B. de Koch (*Journ. de Phys. et de Path. génér.* N° 4, 1903)

Des mêmes. — Agglutination comparée des cultures homogènes de tuberculose humaine et bovine par les sérums obtenus en inoculant ces cultures (*C. R. Soc. de Biologie*, 12 mars 1904).

Des mêmes. — Variations de l'agglutinabilité des différents types de B. tuberculeux en cultures homogènes (*Deux mémoires, in Revue de la Tub.* 3 et 5, 1904).

Des mêmes. — Le sero-diagnostic de la tuberculose (*Congrès intern. de la Tub.* Paris, 1905).

Des mêmes. — Nouvelles cultures homogènes des B. de la tuberculose (*Congrès intern. de la Tub.*, Washington, 1908, I, 62).

Des mêmes. — Valeur comparée de la sero-agglutination et des réactions à la tuberculine (*Conférence intern. de la Tub.* Stockholm, 1909,

- p. 131, et *Congrès de l'Association franç. pour l'avancement des Sciences*, Lille, 1909).
- Des mêmes.* — Valeur comparée de la sero-agglutination et des réactions à la tuberculine, dans le diagnostic et le pronostic de la tuberculose (*Prov. Méd.*, 11 sept. 1909).
- S. ARLOING, BAYLE et DUMAREST. — Etude sur les rapports entre la sero-agglutination et l'évolution de la tuberculose chez l'homme (*Congrès de la Tub.* Paris, 1905).
- ARLOING (Fernand) et DEBOMBOURG. — Etude sur l'ophtalmo-réaction à la tuberculine et la sero-réaction agglutinante (*Journ. de Phys. et Path. génér.* 1908, p. 48).
- BALME. — Etude sur la fréquence de la tuberculose latente (*Th. de Lyon*, 1904).
- BARD et HUMBERT. — Le sero-diagnostic de la tuberculose à Genève (*Congr. Intern. de la Tub.*, Paris, 1905, I, p. 361).
- BAADRAU. — B. de Koch, milieux au glycérophosphate. Doses maxima de fer et de manganèse (*C. R. Acad. des Sciences*, 1910, p. 1.200).
- BERTHELON. — Variations de l'agglutination des B. de la tuberculose (*Th. Lyon* 1904).
- Du même.* — Le sero-diagnostic chez les tuberculeux pulmonaires (*Congr. Intern. de la Tub.*, Paris, 1905, I, 359).
- Du même.* — Sero-diagnostic et cuti-réaction comparés chez les tuberculeux (*Confér. Intern. de la Tub.*, Stockholm, 1909, p. 137).
- BEZANÇON et PHILIBERT. — Revue critique des nouveaux moyens de diagnostic pratique de la tuberculose (*Journ. méd. franç.*, 15 janv. 1910).
- BEZANÇON et DE SERBONNY. — Etude sur les anti-corps tuberculeux (*Journ. de Phys. et Path. Génér.*, 1909, et *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1909, p. 548).
- J. COURMONT. — Précis de Bactériologie (4^e éd. 1909).
- P. COURMONT. — (Voir S. Arloing).
- Du même.* — Le sero-diagnostic de la tuberculose chez le vieillard (*Soc. méd. des Hôp.*, Lyon, 15 déc. 1903).
- Du même.* — Tuberculose latente et sero-diagnostic (*Soc. méd. des Hôp.*, Lyon, 22 mars 1904).
- Du même.* — Sero-pronostic des pleurésies tuberculeuses (*Congr. Intern. de la Tub.*, Paris, 1905, et *Presse Méd.*, 8 nov. 1905).
- Du même.* — Valeur seméiologique de la réaction agglutinante chez les

- tuberculeux ; sero-diagnostic et sero-pronostic (*Rapport au Congr. pour l'Avancement des Sciences*, Lyon, Août 1906).
- Du même.* — Sero-diagnostic des épanchements articulaires (*Congr. de Médecine*, Paris, 1907).
- Du même.* — The agglutinating Power of the Blood of Tuberculous Patient ; serum-diagnosis, serum-prognosis (*Congr. Intern. de la Tub.* Washington, 1908, I, 62 et *Archiv. of internah Médecine*, March, 1909).
- Du même.* — Propriété humorales des exsudats tuberculeux ; applications diagnostiques et pronostiques (*Congr. Intern. de la Tub.*, Washington, 1908 ; I, 263).
- Du même.* — Précis de Pathologie générale (2^e éd. 1909).
- P. COURMONT et F. ARLOING. — Sero-réaction et ophtalmo-réaction comparées chez le vieillard (*Soc. méd. des Hôp.*, Lyon, 11 mai 1909, et *Lyon Médical*, 20 juin 1909).
- P. COURMONT et CADE. — Sero-diagnostic des ascites (*Soc. Méd. des Hôp. de Lyon*, et *Lyon Médical*, 3 janv. 1909).
- P. COURMONT, CADE et F. ARLOING. — Indications pronostiques tirées des propriétés humorales d'un épanchement tuberculeux mortel. Sero-pronostic (*Lyon Méd.*, 16 août 1908).
- FERRÉ et BUARD. — Sero-diagnostic dans la tuberculose (*Congr. intern. de la Tub.*, Paris, 1905, I, p. 337).
- FERRY. — Sero-diagnostic et sero-pronostic des épanchements articulaires tuberculeux (*Th. Lyon*, 1909).
- FINZI. — Les divers B. tuberculeux considérés comme antigènes à l'égard des sérums riches en anti-corps tuberculeux (*C. R. Soc. de Biologie*, 1910, p. 704).
- FROMENT. — Le sero-diagnostic de la tuberculose chez le vieillard (*Congr. intern. de la Tub.*, Paris, 1905, I, 353).
- GRYSEZ et JOB. — Le diagnostic précoce de la tuberculose dans l'armée et le sero-diagnostic d'Arloing et Courmont (*Rev. de Méd.*, 10 sept. 1906).
- GUINARD. — De l'usage des tuberculines et des sérums dans le diagnostic de la tuberculose (*Rapp. à la Conf. intern. de la Tub.*, Stockolm, 1909, p. 141).
- HAWTHORN (Ed). — Sero-diagnostic de la tuberculose ; sa valeur (*Congr. intern. de la Tub.*, Paris, 1905, I. 339).
- HORTON, SMITH et ARMIT. — The agglutinating reaction in cases of

- pulmonary tuberculosis (*British Congress in tuberculosis*, London, 1900, III, 151).
- HUMBERT, — Du sero-diagnostic tuberculeux dans le diagnostic de la granulie (*Revue de la Tub.*, août 1904).
- KARWACKI. — Sur la présence des agglutinines dans les crachats tuberculeux (*C. R. Soc. de Biologie*, 25 fév. 1911).
- Du même* — Sur la sensibilité de divers types de B. tuberculeux et acido-résistants en présence des agglutinines humaines (*C. R. Soc. de Biologie*, 3 juin 1911).
- KINGHORN et TWICHEEL. — Sero-diagnostic de la tuberculose (*Rev. de la Tub.*, fév. 1907).
- KINGHORN and TWICHEEL. — A clinical study of the effect of tuberculin treatment on the serum agglutination of tubercle bacilli (*Amer. Journ. of the Med. Sciences*, N° 3, 1909).
- LAGRIFOUL et PAGÈS. — Sur le passage de l'agglutinine de la mère au fœtus, dans le cas de tuberculose (*C. R. Soc. de Biologie*, 25 juil. 1903).
- LANDIS. — Studies in agglutination in tuberculosis (*Journ. of Med., Research* 1908, p. 19).
- LÜDKE. — Sero-diagnostic der tuberkulose (*Physik, Med., Gesellsch. Würzburg*, 16 juin 1910).
- MILHIT. — Diagnostic de la tuberculose, étude critique de certains procédés de laboratoire (*Rev. de la Tub.*, juin 1910).
- NICOLAS (J.) et P. COURMONT. — Agglutination des B. de la tuberculose aviaire (*C. R. Soc. de Biologie*, 12 mars, 1904).
- Des mêmes.* — Le sero-diagnostic tuberculeux chez les lupiques (*Congr. intern. de la Tub.*, Paris 1905, I, 342).
- NILUS. — Sero-diagnostic de la tuberculose (*Congr. intern. de la Tub.*, Paris 1905, I, 363).
- PARIS et SABAREANU. — Sero-réaction (méthode de Arloing et Courmont) dans le lupus érythémateux. (*Congr. de la Tub.*, Paris, 1905, I, 344).
- PEKANOWICH. — Ueber den diagnostischen Wert der seroeaction der tuberkulose, mit besondere Rücksicht auf die Kobrereaction (*Deutsch. Med. Woschensch*, N° 4, 1910).
- PELLEGRINI — La sero-réaction dans les maladies tuberculeuses chirurgicales (*Clinica Moderna*, 17 et 28, 1904).
- RAVENEL and LANDIS. — Agglutination studies in tuberculosis (*The Medical, News*, 1905).

- ROEPKE und STURM. — Die Frühdiagnose der Lungentuberkulose auf serologischem Wege (*Leitschrift Med. Beamte*, N° 18, 1910).
- SAKKARINI. — Sur l'agglutination dans la scrofule (*Jahrbuch für Kinderh.*, Janv. 1906).
- SALOMON, et SABAREANU. — Contribution à l'étude de la sero-réation de la bacillo-tuberculose (*Rev. de Médecine*, 1905, p. 524).
- SALOMON, SABAREANU, THAON et VITRY. — Contribution à l'étude de la sero-reaction de la bacillo-tuberculose (*Congr. int. de la Tub.*, Paris, 1905, I, 344).
- SCHERRER. — Sero-diagnostic local des tuberculoses articulaires (*Th.*, Lyon, 1905).
- SZABOKY. — Erfahrung ueber die praktische Verwertung der Komple-mentbindung und anderer bakteriologischer und serologischer Untersuchungen bei der Diagnose der Lungentuberkulose (*Zeitschr. für tuberk.*, 1909, H. 4).
- Du même.* — Agglutination versuche bei tuberculose (*Zeitschr. f. tuberk.*, 1909, H. 4).
- TEISSIER (J.). — Valeur pronostique de la sero-réaction (*Congr. italien de Méd. interne*, Gênes, 1905, p. 520).
- THOMESCU et GRACOSKI. — Le sero-diagnostic de la tuberculose en général, et particulièrement chez l'enfant (*Congr. intern. de la Tub.*, Paris, 1905).
- WIDAL. — Diagnostic de la tuberculose (*Acad. de Méd.*, 8 fév. 1910).
- WOLFF-EISNER. — Frühdiagnose und Tuberkulose immunität, Würzburg, 1909.
-

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS. — Objet général de cette étude	9
--	---

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I. — Historique.	13
I. — Technique de l'agglutination	16
II. — Résultats, leur appréciation, leur notation	20
CHAPITRE II. — Résultats des expériences faites en 1904	23
I. — Plan d'expériences	23
II. — Résultats généraux	24
III. — Agglutinabilité	27
IV. — Pouvoir agglutinogène	29

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE I. — Des cultures homogènes de la tuberculose	32
CHAPITRE II. — Expériences faites pour rechercher l'agglutination et le pouvoir agglutinogène	44
I. — Première série	45
II. — Deuxième série	49
III. — Agglutinabilité des cultures homogènes par les sérums de diverses origines	52
CHAPITRE III. — Pouvoir agglutinogène des cultures homogènes	54
CHAPITRE IV. — Agglutinabilité des cultures homogènes.	59
Résultats obtenus	60
Discussion de ces résultats	66
CONCLUSIONS.	79
BIBLIOGRAPHIE.	83

